

B. Marguardt

Bochum 1977



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546603_0002

Aus dem Institut für Pathologie
der Ruhr-Universität Bochum
Lehrstuhl II (Leiter: Prof. Dr. K. Morgenroth)

Direkte Staubanalyse im Lungengewebe zur
Differentialdiagnose fibrosierender Lungenprozesse

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

zur

Erlangung des Doktorgrades der Medizin

einer

Hohen Medizinischen Fakultät

der Ruhr-Universität zu Bochum

vorgelegt von

Brigitta Marquardt

aus Bochum

1977



Dekan: Prof. Dr. Forth
Referent: Prof. Dr. K. Morgenroth
Koreferent:

Tag der mündlichen Prüfung:

UNTERSUCHUNGEN VON LUNGENSCHNITTEN MITTELS DER
ENERGIESIDPERSEN RÖNTGENMIKROANALYSE

	Seite
I. Durchführung der Versuche	33
II. Material der Untersuchungen	52
III. Ergebnisse der Untersuchungen	54
IV. Diskussion	99
Zusammenfassung	103
Literaturangabe	105
Lebenslauf	112

LITERATUR UND VORAUSSETZUNGEN

LIT-ERATUR UND VORAUSSETZUNGEN

	Seite
Einleitung	1
I. Reaktion der Atemwege auf akute Intoxikationen	2
II. Reaktion der Atemwege auf chronische Staubinhalation	4
III. Ursachen für die mangelnden Kenntnisse der Folgen chronischer Staubinhalation	7
IV. Eliminierung und Ablagerung von Staub- partikeln	10
V. Die Alveolarmakrophagen und ihre Be- deutung für die Gewebsreaktion auf inhaliertes Fremdmaterial	12
VI. Methoden zur Differenzierung von Fremdmaterial im Gewebe	20
VII. Aufbau und Wirkungsweise des Raster- elektronenmikroskopes und des Röntgen- mikronanalysengerätes	22
VIII. Apparativ bedingte Fehlerquellen	23

Einleitung

Im Rahmen zunehmender Urbanisierung und Industrialisierung und der damit verbundenen Umweltverschmutzung steigt die Konzentration an gas- und staubförmigen Bestandteilen in der Luft an. Diese Tatsache gewinnt als Ursache verschiedener Lungenerkrankungen an Bedeutung. Betroffen sind neben Arbeitern in Betrieben mit erhöhtem Anfall an feinstäubigem und gasförmigem Material auch Menschen, die zeitlebens in stark industrialisierten Gegenden wohnen und der Gefahr einer Akkumulation von Schadstoffen infolge erhöhter Mengen an Emissionsstoffen ausgesetzt sind.

Die Reaktion seitens der Atemwege auf akut hohe Staub- und Gaskonzentrationen unterscheiden sich von der auf chronische Inkorporation relativ kleiner Staubmengen.

I. Reaktion der Atemwege auf akute Intoxikationen

Höhere Konzentrationen bestimmter Gase, z.B. Ozon, H_2S , SO_2 , NO_2 und staubförmiger Substanzen führen, unter Umständen erst nach einiger Latenzzeit, zu akuten Bronchitiden, Pneumonien bis hin zum toxischen Lungenödem.

Die Ursache dafür ist neben einer toxischen Gefäßwandschädigung vor allem eine Schädigung des Bronchial- und Alveolarepithels und der Alveolarmakrophagen. Letztere werden in ihrer Phagozytosefähigkeit eingeschränkt bzw. abgetötet. Da die Alveolarmakrophagen aber die wichtigste Barriere in der Infektabwehr der Lungen bilden, hat jede Minderung der Anzahl und/oder Störung der Funktion einen weitgehenden Einfluß auf den Infektionsablauf.

Reizgase, mehr noch als Staubpartikel, können zu einer Degeneration des Alveolarepithels führen. Dies zeigt sich unter anderem in einer Zunahme der Zahl und Größe der Alveolarporen, einer Verquellung und Verdickung der Basalmembran und einer hydrophen Schwellung der Epithelzellen, die völlig

zugrunde gehen und sich von der Alveolarwand ablösen können. Als Folge der Alveolarepithel- und Gefäßwandschädigung kommt es zum Austritt von Fibrin in die Alveolen und ins Interstitium (Bils, 1974).

An dem Bronchialepithel zeigt sich der toxische Effekt vor allem in den terminalen Bronchiolen durch Verlust der Cilien, während die Mikrovilli meist intakt bleiben.

Die Lungenveränderungen nach akuten Intoxikationen können folgenlos ausheilen. In vielen Fällen entwickeln sich jedoch chronische Pneumonien und interstitielle Fibrosen.

Im allgemeinen werden solch hohe toxische Gas- und Staubkonzentrationen nur im Rahmen von Betriebsunfällen erreicht und sind deshalb relativ selten. Unter ungünstigen Umständen (z.B. Smog) können beim Zusammentreffen verschiedener Abgase diese aber auch unterhalb ihrer Toxizitätsschwelle akute toxische Schädigungen hervorrufen.

II. Reaktion der Atemwege auf chronische Staubinhalation

Größere Bedeutung als die Inhalation akut hoher Staub- und Gaskonzentrationen hat die sowohl berufliche als auch umweltbedingte chronische, oft unbemerkte und unbekannte Inkorporation relativ kleiner Staubmengen, deren Folgen nur teilweise bekannt sind.

Selbst stärkere Staubablagerungen sind pathologisch-anatomisch oft ohne nennenswerte Bedeutung. Abhängig von der physikochemischen Natur und der Partikelgröße des Fremdmaterials, aber auch von individuellen, bisher nicht sicher bekannten Eigenschaften können sich chronische Entzündungen, Fibrosen oder Karzinome entwickeln.

Bestimmte Substanzen, z.B. Graphit, bewirken eine gesteigerte Makrophagenproduktion, eine Reifung und Stimulation lysosomaler Enzyme und Steigerung der Phagozytosefähigkeit, als deren Folge sich Fremdkörpergranulome und Fremdkörperriosenzellen bilden. Eine Transformation der Makrophagen zu Riesenzellen ist auch bei der Asbestose zu beob-

achten. Diese stellt offenbar einen Anpassungs-
vorgang dar, der die Ingestion unüblich großer
Partikel ermöglicht.

In die Gewebsreaktion, sowohl die entzündliche
als auch die fibrogene, greifen neben den Staub-
partikeln selbst lysosomale Enzyme aus den Gra-
nula der Phagozyten ein. Insgesamt soll eine
gute Übereinstimmung zwischen der zytotoxischen
Wirkung der Stäube und ihren entzündungsfördernden,
vor allem aber ihren fibrogenen Eigenschaften
bestehen. Die Beziehungen sind jedoch sehr
komplexer Natur und bisher nur teilweise geklärt
(Brude, 1970).

Die Ursachen der Krebsentwicklung in der Lunge
durch Inhalation karzinogener Substanzen wie
Asbest, Chrom und Nickel sind heterogen. Neben
einer teilweise unspezifischen Krebsauslösung
über eine chronische Entzündung mit Epithel-
metaplasien besteht auch eine spezifische,
physikochemische Wirkung, auch wenn sie bis
heute noch nicht substantiell zu fassen ist
(Schmähl, 1970). Die Spezifität der kanzerogenen
Wirkung kommt beim Vergleich zwischen

der Asbestose und der Silikose besonders klar zum Ausdruck. Im Gegensatz zur Asbestose geht die Silikose nur ausnahmsweise - im Falle des Narbenkrebses - mit einer Krebsentwicklung einher. Wahrscheinlich addieren sich auch bei der Entwicklung des Lungenkarzinoms verschiedene, teilweise nur schwach wirksame Karzinogene im Sinne Synkarzinogenese.

III. Ursachen für die mangelnden Kenntnisse der Folgen chronischer Staubinhalation

Auch wenn unsere Kenntnisse über die biologische Wirksamkeit von Stäuben namentlich im letzten Jahrzehnt erweitert wurden, so sind die pathogenetischen Zusammenhänge in vielen Punkten noch nicht geklärt. Dies gilt für so alte, und relativ gut erforschte Erkrankungen wie die Silikose und Asbestose, im besonderen Maße aber für die modernen Berufskrankheiten wie die Aluminose, die Hartmetallunge, die Berylliose und die verschiedenen Berufskrebse. Die Folgen von Inhalation von Spurenelementen, und da vor allem der metallischen, sind sogar noch weitgehend unbekannt.

Wesentlich mitbedingt sind unsere mangelnden Kenntnisse durch die oft langen Latenzzeiten bis zum Auftreten der ersten Krankheitsercheinungen. So werden z.B. die leichten Stadien der Asbestose im Durchschnitt nach 13-jähriger, die mittleren nach 16-jähriger und die schweren nach durchschnittlich 21-jähriger Tätigkeit beobachtet (Baader, 1961).

Ebenfalls lange Latenzzeiten finden sich bei der Silikose, der Berryliose und den Berufskarzinomen. Die durchschnittliche Latenzzeit bis zum Auftreten der Karzinome liegt bei den Chromaten bei 15 Jahren (5 - 47 Jahre), bei Nickel bei 22 Jahren (6 - 30 Jahre) und beim Teerrauch bei 16 Jahren (9 - 23 Jahre) (Baader, 1961). Insgesamt schwanken die Angaben über die Latenzzeit in der Literatur beträchtlich.

Die zur Gewebsreaktion führende inhalierte Gesamtstaubmenge, die Abhängigkeit von der Expositionsdauer und Staubkonzentration in der Atemluft ist für die einzelnen Stäube verschieden und außerdem stark von individuellen, bisher nicht faßbaren Eigenschaften des Exponenten abhängig. So treten z.B. bei Bergleuten, die lange Zeit am gleichen Arbeitsplatz und unter gleicher Staubbelastung gearbeitet haben, silikotische Lungenveränderungen nach unterschiedlich langer Latenzzeit und in verschiedenen Schweregraden auf.

Für einige Berufskrankheiten, z.B. die Silikose und die Asbestose, ist eine gewisse Proportionalität zwischen inhalierter Staubmenge und resul-

tierender Gewebereaktion weitgehend gesichert.
Anders bei den vorwiegend karzinogen wirkenden
Spurenelementen, bei denen offenbar schon kleine
Mengen ausreichen und eine Proportionalität bis-
her nicht festgestellt werden konnte.

IV. Eliminierung und Ablagerung von Staubpartikeln

Die meisten Staubarten, seien sie pflanzlicher, tierischer, mineralischer oder metallischer Herkunft, können die Schleimhäute reizen, wenn sie in größeren Mengen eingeatmet werden.

Für die Entstehung der Lungenfibrosen und der Karzinome kommt nur derjenige Anteil des eingeatmeten Schwebstaubes als pathogenes Agens in Betracht, der bis in die Lungenazini gelangt, also in diejenigen Anteile des Respirationstraktes, die nicht mehr von einem kontinuierlichen Flimmerepithel ausgekleidet sind.

Ein mehr oder minder großer Teil des Staubes wird in den zuführenden Atemwegen - Nase, Larynx, Tracheobronchialbaum - niedergeschlagen und vom Flimmerstrom des Epithels in den Pharynx transportiert. Ein anderer Teil verläßt mit der Ausatemungsluft wieder den Körper.

Für die Staubeleminierung aus dem Atemtrakt ist die Zilienaktivität des Flimmerepithels von größter Bedeutung. Allgemeine Erkenntnis ist heute, daß im wesentlichen nur Staubteilchen unter 6μ Durch-

messer überhaupt in der Lage sind, bis in die Lungenazini vorzudringen, wobei die Frage nach der Pathogenität der Fraktion unter $0,2 \mu$ noch nicht endgültig beantwortet ist.

Die Partikel, die in die Alveolen gelangen, werden im allgemeinen von den Alveolarmakrophagen phagozytiert. Der größte Teil des inhalierten Staubes wird in den Phagozyten mit Hilfe des mukoziliaren Apparates wieder nach außen in den Oropharynx befördert. Dieser Reinigungsmechanismus funktioniert jedoch nur bis zu einer bestimmten Maximalbelastung, die unter anderem auch abhängig ist vom Funktionszustand der Makrophagen und des mukoziliaren Apparates, sowie der Art und Größe des phagozytierten Materials.

Bevorzugt wird das Material in der Umgebung terminaler Bronchiolen und Gefäße abgelagert. Die Frage nach dem Übertritt der Staubpartikel aus dem Luft- in den Bindegewebsraum der Lunge und dem weiteren Transport in diesem selbst ist noch nicht geklärt. Noch lange Zeit nach Beendigung der Staubexposition lassen sich staubbeladene Makrophagen auch noch in den Alveolen nachweisen.

V. Die Alveolarmakrophagen und ihre Bedeutung für
die Gewebsreaktion auf inhaliertes Fremdmaterial

Das unterschiedliche Verhalten der verschiedenen Stäube ist zumindest teilweise von der Initialreaktion der Phagozyten auf das einverleibte Material abhängig. Wegen ihrer Bedeutung für die Infektabwehr und die Reinhaltung der Lungen soll im folgenden auf wichtige Charakteristika der Alveolarmakrophagen eingegangen werden.

Über ihre Herkunft hat es viele kontroverse Theorien gegeben. Als mögliche Ursprungsorte wurden diskutiert:

1. Das Alveolarepithel der Lungen,
2. interstitielle Zellen des Lungenparenchyms,
3. Monozyten des Blutes,
4. extrapulmonale Retikuloendothelzellen.

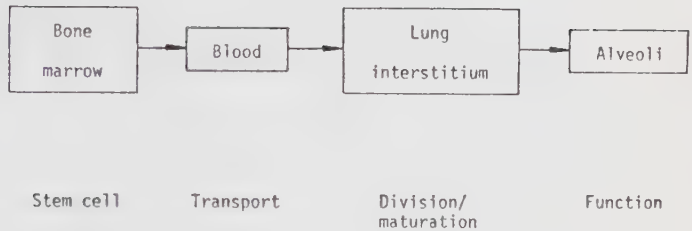
Pinkett et.al. gelang es 1966 mittels Chromosomen-Marker nachzuweisen, daß zumindest zwei Drittel der Alveolarmakrophagen eindeutig von Knochenmarkszellen abstammen. Ein Drittel wären

ihren Schlußfolgerungen nach pulmonalen Ursprungs.

Virolainen untersuchte 1968 Makrophagenkulturen von bestrahlten Mäusen und kam aufgrund seiner Untersuchungen zu dem Ergebnis, daß letztlich alle Makrophagen von Knochenmarkszellen abstammen.

Die Verbindung zwischen den Stammzellen im Knochenmark und den reifen Makrophagen stellen die Monozyten dar (van Furth, 1968; Brunstetter, 1971).

Unsere Kenntnisse über die weitere Entwicklung der Monozyten zu den Alveolarmakrophagen sind bruchstückhaft, und bis heute ist es noch nicht völlig sicher, ob die Monozyten direkt vom Blut in die Alveolen gelangen oder ob es eine Zwischenstufe im Lungenparenchym gibt, wo die Reifung der Alveolarmakrophagen erfolgt. Bowden et al. (1969, 1972) nehmen aufgrund ihrer Untersuchungen eine solche Zwischenstufe an. Nach ihren Vorstellungen verläuft die Entwicklung wie folgt:



(aus: Bowden et al. Origin of the lung macrophage, 1969)

Für Bowdens Vorstellung könnte auch die Tatsache sprechen, daß nach Tiefenbestrahlung von Versuchstieren die Monozyten wie auch die übrigen Blutzellen sofort abfallen, die Alveolarmakrophagenzahl zunächst konstant bleibt und ab der 2. Woche sogar zunimmt. Es muß also unmittelbare Vorläufer geben, die wie die Alveolarmakrophagen selbst relativ strahlenunempfindlich sind.

In ihrer Grundstruktur gleichen die Alveolarmakrophagen anderen mononukleären Phagozyten, besonders den Peritonealmakrophagen. Ihr morphologisches Hauptmerkmal sind die zahlreichen, in Zahl und Struktur vom jeweiligen Funktionszustand abhängigen Granula. Ein geringerer Teil von ihnen ist klein, zeigt eine relativ homogene Struktur und liegt vor allem im Bereich des Golgi-Apparates. Läßt sich zytochemisch saure Phosphatase nachweisen, werden sie als primäre Lysosomen bezeichnet. Die Ansichten darüber, ob sie vom Golgi-Apparat oder vom endoplasmatischen Retikulum abstammen, sind verschieden. Neben diesen kleinen, homogenen Granula finden sich insbesondere in stimulierten Makrophagen größere von äußerst heterogener Struktur. Enthalten sie phagozytiertes Fremdmaterial, werden sie als Heterophagosomen bezeichnet. Findet sich zelleigenes Material, so werden sie Autophagosomen genannt. Durch Zusammenfluß der Phagosomen mit primären Lysosomen entstehen die sekundären Lysosomen, das sind membranumgebene Bläschen mit ingestiertem Material und positiver saurer Phosphatase-Reaktion. Sie stellen die Organellen des Phagozyten dar, in denen sich der Hauptteil der Bakteriziden und

alle Verdauungsaktivitäten abspielen.

Biochemisch unterscheiden sich die Alveolar-makrophagen deutlich von den übrigen Phagozyten. Sie enthalten mehr saure Phosphatase, Lysozyme, Lipasen, Cytochromoxydase und Succinyldehydrogenase (Carr, 1973; Dannenberg 1963; van Furth 1970). Als Energiequelle dient ihnen die oxydative Phosphorylierung, im Gegensatz zu den anderen Makrophagenarten, die ihre Energie aus der Glycolyse beziehen (van Furth 1970). Die Alveolar-makrophagen sind deshalb besonders empfindlich gegen Änderungen des Sauerstoffpartialdruckes. Menschliche Alveolarmakrophagen benötigen mindestens einen Sauerstoffpartialdruck von 25 mmHg zur maximalen Phagozytose. CO_2 -Drucke bis 70 mmHg zeigen keinen Einfluß, solange der pH konstant bleibt (Cohen 1971). Neben verschiedenen Gasen wie SO_2 , NO_2 , Ozone usw. beeinflussen auch allgemeine metabolische Störungen des Organismus, wie Störungen des Elektrolyt- und Säure-Basenhaushaltes, die Makrophagenfunktion.

Die Phagozyten nehmen extrazelluläre Substanzen

durch Pinozytose oder Phagozytose in Form mehr oder weniger kleiner endozytotischer Vakuolen auf. Beim Kontakt zwischen dem zu phagozytierenden Fremdkörper und den Membranrezeptoren der Phagozyten kommt es zu einer Invagination der Zellmembran und zu Pseudopodienbildung. Die Pseudopodien schieben sich über die zu phagozytierenden Partikel, verschmelzen an ihren Berührungspunkten und bilden somit die sogenannten Phagosomen. Nach der Fusion mit den primären Lysosomen ergießt sich deren Inhalt in die Phagosomen, es entstehen die sekundären Lysosomen oder auch Phagolysosomen (Hahn, 1976).

Das Verhalten der Alveolarmakrophagen gegenüber Bakterien und Parasiten unterscheidet sich von dem gegenüber inerten Partikeln.

Bestimmte Bakterien- und Parasitenarten werden innerhalb kurzer Zeit abgetötet und zu niedermolekularen Bestandteilen abgebaut. Andere führen zu einer Aktivierung der Makrophagen im Gefolge einer zellulären Immunreaktion gegen bakterielle Antigene. Dabei kommt es zur Ansammlung von Makrophagen, d.h.

zur Granulombildung. Virulente Bakterien und Parasiten können eine Autolyse der Zellen bewirken, indem sie die Lysosomenmembran labilisieren und es zum Austritt lysosomaler Enzyme kommt. Bestimmte Erreger, z.B. die Mykobakterien, verhindern die Fusion der Lysosomen mit den Phagozyten und stören auf diese Weise den Ablauf der Abwehrreaktion (Hahn, 1976).

Anorganische Substanzen erfahren in den Makrophagen meist keine wesentlichen Veränderungen. Gegebenenfalls, z.B. beim Eisen, erfolgt eine Spaltung in niedermolekulare Bestandteile (Gedik, 1976). Asbest und Glasfasern können mit einem Eisen-Eiweißmantel umgeben werden. Sofern die Staubpartikel die Phagozyten nicht schädigen, bleiben sie unverändert in den Phagolysosomen liegen und sind in diesen unter Umständen zeitlebens in der Lunge nachweisbar.

Ähnlich wie virulente Bakterien und Parasiten führen bestimmte Substanzen wie Quarz, Asbest und Bleioxyd zur Autolyse der Phagozyten. Der zytotoxische Effekt beruht neben einer allge-

meinen Depression des Zellstoffwechsels auf einer Störung der Membranpermeabilität. Insbesondere SiO_2 - und hiervon nur der unbedeckte - beeinflußt sehr frühzeitig die zellulären Membranen und führt zu einer schnellen Zellnekrose. Die Asbestfasern wirken demgegenüber nicht so akut toxisch, so daß die Makrophagen deren Phagozytose meist länger überleben. Die bei der Autolyse freiwerdenden Staubpartikel besitzen eine unveränderte Zytotoxizität, und der Zyklus: Phagozytose, Makrophagenautolyse, Freiwerden der Fremdpartikel, wiederholt sich.

Wie bereits an anderer Stelle ausgeführt, greifen lysosomale Enzyme der Phagozyten in einem bis heute nicht völlig geklärten Umfange in die Gewebsreaktion ein. Hydrolasen z.B. stellen entweder selbst entzündungsfördernde Substanzen dar, oder aktivieren ihrerseits Entzündungsmediatoren (Hahn, 1976). Auch für die Fibroseentwicklung sind lysosomale Enzyme von Bedeutung (Bowden, 1971).

VI. Methoden zur Differenzierung von Fremdmaterial im Gewebe

Wie aus dem bisher Ausgeführten hervorgeht, kann der Nachweis von anorganischem Fremdmaterial in der Lunge sowohl zur Klärung der Ätiologie bestimmter Lungenerkrankungen als auch versicherungsrechtlich von Bedeutung sein.

Zur Identifizierung unklaren Pigmentes in der Lunge werden im wesentlichen histochemische und färbereische Methoden angewandt. Steht genügend Material zur Verfügung, handelt es sich also um Sektions- oder Operationspräparate, können die Spektralanalyse und Neutronenaktivierungsanalyse durchgeführt werden. Die beiden letztgenannten Methoden liefern genaue Ergebnisse, haben aber die Nachteile, daß sie technisch aufwendig sind, reichlich Material erfordern und vor allem eine topographische Zuordnung der nachgewiesenen Elemente zu bestimmten Lungenveränderungen nicht ermöglichen.

In den letzten Jahren ist die Röntgenspektroskopie als Methode zur Elementanalyse hinzugekommen. Insbesondere die energiedisperse Röntgenmikroanalyse ermöglicht mit geringem technischem Aufwand einen exakten Elementnachweis bereits in kleinen Gewebeproben. Da diese Analyse in Verbindung mit dem Raster- oder Transmissionselektronenmikroskop durchgeführt wird, ist eine genaue Aussage über die topographische Beziehung der Ablagerungen zur Lungenveränderung möglich.

VII. Aufbau und Wirkungsweise des Rasterelektronen- mikroskopes und des Röntgenmikroanalysengerätes

Im Rasterelektronenmikroskop wird die Probenoberfläche von einem fein fokussierten Elektronenstrahl (Primärelektronenstrahl) abgetastet. Die Abbildung der Probenoberfläche erfolgt nach dem Rasterprinzip mit Hilfe der am Objekt ausgelösten Sekundärelektronen. Man erhält damit Bilder von großer Schärfentiefe und hohem Auflösungsvermögen. Außer der Sekundärelektronenemission treten als Folge der Primärelektronenbestrahlung in einer Probe noch andere Effekte auf, die für eine Materialanalyse herangezogen werden können.

Als Elektronenquelle dient eine Wolfram-La B 6 (Lanthan hexachlorid)-Kathode, die in einem Hochvakuum von 10^{-4} bis 10^{-6} Torr bis auf ca. 3000° C aufgeheizt wird. Die aus der Kathode austretenden Elektronen werden durch die Anodenspannung (20 KeV) beschleunigt und durch einen Weneltzylinder vorfokussiert. Der Elektronenstrahl wird anschließend mit Hilfe zweier magnetischer Linsen bis auf einen Durchmesser von 50 bis 200 Å weiter gebündelt. Mittels vier

in einer Ebene liegenden Ablenkspulen kann der Elektronenstrahl über die zu untersuchende Oberfläche geführt werden. Synchron damit läuft ein Elektronenstrahl in einer separaten Oszillographenröhre über einen Bildschirm. Durch Veränderungen des Stromes in der Ablenkspule kann die Größe der abgerasterten Probenoberfläche zwischen 10 mm^2 und $2 \text{ }\mu\text{m}^2$ variiert werden. Aus dem Verhältnis von abgerasterter Probenoberfläche zur Bildschirmgröße ergibt sich die Vergrößerung.

Der Primärelektronenstrahl trifft auf das zu untersuchende Präparat und tritt in Wechselwirkung mit dessen Materie. Dabei treten verschiedene Phänomene auf (Abb. 1).

Ist das Präparat dünn genug, können Primärelektronen nach teilweiser Absorption bzw. Energieverlust durch die Probe hindurchdringen, wieder fokussiert und auf einem Schirm sichtbar gemacht werden (Transmissionsmikroskop). Ist die Probe dick genug, um keine Primärelektronen durchdringen zu lassen, wird der nicht aus der Probe herausgestreute Anteil der Primärelektronen im Präparat absorbiert und kann als Probenstrom gemessen werden.

Zur Bilddarstellung im Rasterelektronenmikroskop werden die von der Probe emittierten Sekundärelektronen benutzt. Als Detektor dient ein mit einem Fotomultiplier verbundener Szintillator. Das Ausgangssignal dieses Detektors steuert nach entsprechender Verstärkung die Intensität des Elektronenstrahles in der Bildröhre, so daß gleichzeitig das entsprechende, aus vielen Einzelpunkten zusammengesetzte Bild der Probenoberfläche auf dem Bildschirm erscheint. Mit dem Rasterelektronenmikroskop kann eine Auflösung bis zu $100 \text{ \AA}$ und eine Vergrößerung bis zum 100.000-fachen erreicht werden.

Für die Elementanalyse sind sowohl die Röntgen- als auch die Augerelektronenspektroskopie geeignet. Die Energie der Röntgenquanten und die daraus resultierenden Röntgenlinien sind charakteristisch für jedes Element. Die Augerelektronen treten besonders häufig bei Elementen mit niedriger Ordnungszahl auf, bei mittleren und höheren überwiegt die Röntgenstrahlungsemission. Abbildung 2 zeigt die bisher diskutierten spektroskopischen Verfahren für die Mikroanalyse im Rasterelektronenmikroskop (Abb. 2).

In dem von uns benutzten System 5100 der Kevex-Corporation werden die charakteristischen Röntgenstrahlen zur Elementanalyse benutzt.

Der Registrierung der polychromatischen Röntgenstrahlen dient ein Lithium-Silizium-Detektor, der, um eine höchstmögliche Auflösung zu erreichen, im Vakuum und bei niedrigen Temperaturen (etwa minus 195° C) betrieben wird. Die Kühlung des Silizium-Lithium-Detektors erfolgt durch flüssigen Stickstoff. Vor dem Detektor ist ein Berylliumfenster angebracht, durch das die untere Grenze der noch nachweisbaren Röntgenstrahlen determiniert wird. Bei einem $8\text{ }\mu\text{m}$ dicken Berylliumfenster liegen diese etwa bei $0,6\text{ eV}$, der Röntgenlinie von Fluor. Noch dünnere Fenster sind nicht vakuumdicht.

Im Detektor verlieren die Röntgenstrahlen durch verschiedene Prozesse ihre Energie. Die dabei erzeugten Ladungsimpulse sind proportional dem Energieverlust der Röntgenstrahlen. Die Ladungsimpulse werden verstärkt und ihrer Amplitude gemäß in einem Vielkanalimpulshöhenanalysator sortiert und gespeichert. Bereits während der Aufnahme wird auf dem angeschlossenen Bildschirm das gesamte Linienspektrum sichtbar. Die Lage der Röntgenlinien

ermöglicht die Identifizierung der Elemente, die Linienintensität ist ein Maß für ihre Konzentration.

Als Folge der Dicke des Berylliumfensters und der Eigenempfindlichkeit des Detektors lassen sich nur Photonen mit einer Energie über 1 KeV nachweisen.

Da die Röntgenlinien hauptsächlich durch die Elektronenübergänge in den innersten Elektronenschalen entstehen, ist ihre Energie unabhängig von den Bindungszuständen der Atomen. Nur bei Elementen mit niedriger Ordnungszahl (z. B. Aluminium, Silizium) treten Veränderungen der Energie und Intensität der Röntgenlinien auf. So beträgt z.B. die Energieverschiebung des Aluminiums beim Übergang zum Aluminiumoxid etwa 4 eV und beim Silizium zum Siliziumdioxid etwa 14 eV. Infolge des geringen Auflösungsvermögens des Silizium-Lithium-Detektors lassen sich diese Energieverschiebungen aber nicht nachweisen.

Neben den charakteristischen Röntgenstrahlen entstehen noch sog. Bremsstrahlen, die im Gegensatz zu den Röntgenstrahlen uncharakteristisch sind und als Folge der Abbremsung der schnellen Elektronen im elektrischen Feld von Atomen auftreten. Das

Bremsspektrum verursacht einen unerwünschten Untergrund auf dem Monitor.

VIII. Apparativ bedingte Fehlerquellen

Bedingt durch das begrenzte Auflösungsvermögen und das Eigenrauschen des Detektors und abhängig von der Zählrate und der Energie der Röntgenstrahlen entstehen verschiedene Meßungenauigkeiten, die im allgemeinen jedoch so gering sind, daß sie bei der Auswertung vernachlässigt werden können.

Von Bedeutung für unsere Versuche ist, daß mit dem von uns benutzten Silizium-Lithium-Detektor Elemente mit einer Ordnungszahl unter 10 bzw. einer Röntgenenergie unter 1 KeV nicht nachweisbar sind. Unter anderem lassen sich Sauerstoff, Kohlenstoff und Fluor nicht erfassen.

Das Auflösungsvermögen des Detektors beträgt 152 - 170 eV für 5,9 KeV und einer Zählrate von 1000 - 5000 Impulsen/Sekunde (Werksangabe). Mit steigender Röntgenenergie nimmt das Auflösungsvermögen ab. Das gleiche gilt für steigende Zählraten, d.h. dichtere zeitliche Folge von Impulsen, da die Wahrscheinlichkeit, daß sich zwei Impulse teilweise überlagern, steigt. Das Ergebnis ist nicht nur eine

Verbreiterung der Linien im Spektrum, sondern auch eine Erhöhung des Untergrundes und damit ein Verlust an Information.

Die Energiedifferenz der Röntgenstrahlen einiger Elemente liegt unterhalb des Auflösungsvermögens des Detektors, so daß bei gleichzeitigem Vorliegen dieser Elemente in einer Probe durch Impulsüberlagerung gemeinsame deformierte Röntgenlinien auf dem Monitor erscheinen. Eine Identifizierung ist nicht mehr möglich. Abbildung 3 zeigt einige häufig vorkommende Elemente, die durch Impulsüberlagerung gemeinsame Röntgenlinien ergeben. Gemeinsame Röntgenlinien entstehen unter anderem von Magnesium, Arsen, Selen sowie von Selen, Aluminium, Brom, Krypton und von Schwefel, Blei und Bitumen (Abb. 3).

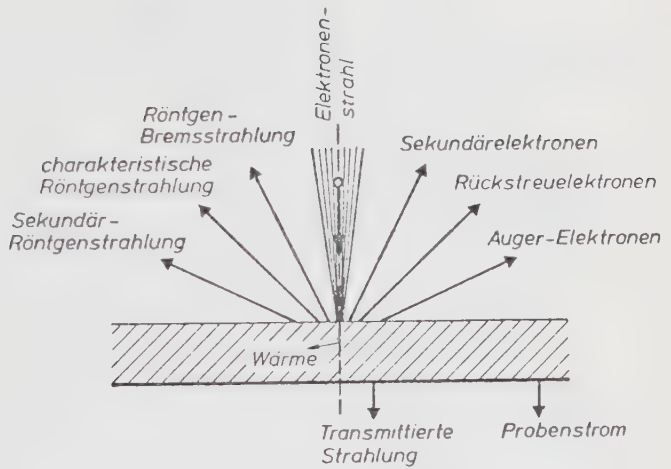


Abb. 1: Bei der Wechselwirkung eines Elektronenstrahles mit einem Präparat auftretende Phänomene.

gemessene Strahlung	Informations-tiefe	Auflösungs-vermögen	Nachweisgrenze Atome/cm ³	g	Nachweisbarer Elementbereich	Analytische Anwendung
Sekundär-elektronen	$\leq 5 \text{ nm (Metalle)}$ $\leq 50 \text{ nm (Isolatoren)}$	$\approx 10 \text{ nm}$	---	---	---	Abbildung
Charakteristische Röntgenstrahlung	$\leq 10 \text{ }\mu\text{m}$	$\approx 1 \text{ }\mu\text{m}$	$\approx 10^{18}$ At	10^{-15} 10^{-14}	$Z \approx 4$ $Z \approx 11$	Elementanalyse
Auger-elektronen	$\leq 1 \text{ nm}$	$\approx 100 \text{ nm}$	$\approx 10^{17}$ At	10^{-17}	$Z \approx 3$	Elementanalyse Oberflächenschichten

Abb. 2: Spektroskopische Verfahren für die Mikroanalyse im Rasterelektronenmikroskop.

Ordnungszahl	chemisches Symbol	Serie	Emissionsenergie in eV
12	Mg	K	125/130
33	AS	L	132
34	Se	L	137/141
13	AL	K	149/156
35	Br	LK	148/153/1187
36	Kr	LK	156/163/1260
14	Si	K	174/183
15	P	K	201/214
16	S	K	230/246
80	Hg	ML	222/998
82	Pb	ML	237/1050/1258
83	Bi	ML	244/1082/1299

Abb. 3: Häufig vorkommende Elemente, die durch Impulsüberlagerung gemeinsame Röntgenlinien ergeben.

UNTERSUCHUNGEN VON LUNGENSCHNITTEN MITTELS DER
ENERGIEDISPERSEN RÖNTGENMIKROANALYSE

I. Durchführung der Versuche

Für die Untersuchung im Rasterelektronenmikroskop und die energiedisperse Röntgenmikroanalyse ist keine aufwendige Präparation der Proben erforderlich. Von dem in 4 %igem Formalin fixierten und in Paraffin eingebetteten Material werden Schnittserien zur wechselseitigen licht- und rasterelektronenmikroskopischen Untersuchung angefertigt. Die Schnitte für die Lichtmikroskopie werden in üblicher Weise gefärbt und auf Glasobjektträger gebracht. Für die Rasterelektronenmikroskopie werden 4 - 6 μ dicke Schnitte auf 0,5 mm dicke Ultrapanfolie aufgezogen. Bei der Ultrapanfolie handelt es sich um eine durchsichtige, gut schneidbare Kunststoffolie, die sich in der Elementanalyse indifferent verhält, d.h. kein meßbares Röntgeneigenspektrum liefert.

Die Durchsichtigkeit ermöglicht die gute Differenzierung des ungefärbten, aufgezogenen Schnittes. Die Schnitte werden entparaffinisiert, indem sie zunächst ca. 20 Minuten in den Brustschrank gelegt, anschließend je etwa 5 - 10 Minuten mit Xylol und 100 %igem Alkohol behandelt werden.

Zur leichteren Orientierung im Rasterelektronenmikroskop werden bei größeren Proben entsprechend dem lichtmikroskopischen Befund ausgewählte Teile für die Untersuchung herausgeschnitten. Die Probe sollte insgesamt nicht wesentlich größer als 1 cm^2 sein. Nachdem das Präparat auf die in der Rasterelektronenmikroskopie gebräuchlichen Aluminiumprobenträger geklebt worden ist, werden im Auflichtmikroskop die zu untersuchenden Bezirke markiert. Zu erkennen sind dabei die Gewebsumrisse, größere Gefäße und Bronchien, ausgeprägte Fibrosen sowie stärkere Pigmentablagerungen. Einzelheiten, z.B. die Alveolarstruktur, geringe Pigmentablagerungen, Asbestkörperchen usw., lassen sich nicht differenzieren. In Verbindung mit dem entsprechenden, gefärbten Schnitt im normalen Lichtmikroskop läßt sich der zu untersuchende Bezirk meist aber gut abgrenzen.

Zur Herstellung der Leitfähigkeit wird Leitsilber (Silver Print der Firma GC Electronics) so aufgetragen, daß ein ausreichend breiter Kontakt zwischen der Ultrapanfolie und dem Probenträger besteht. Nach dem Trocknen wird die Probe in einer Leitz Kontrastiereinrichtung mit einer dünnen

Goldschicht versehen. Die Beschichtung erfolgt innerhalb einer elektrischen Gasentladung (Argon) bei mittlerem Vakuum. Die Beschichtungsdauer beträgt ca. 20 Sekunden. Mittels Dreh- und Kippbewegung der Probe soll eine möglichst gleichmäßige Goldverteilung erreicht werden, um Aufladungserscheinungen und damit unscharfe Bilder im Rasterelektronenmikroskop zu vermeiden.

In der Vakuumkammer des Rasterelektronenmikroskopes wird die Probe etwa in einem Winkel von 40 bis 50° C zum einfallenden Primärelektronenstrahl angebracht. Nach Erreichen des Hochvakuums von 10^{-4} - 10^{-6} Torr wird das Präparat zunächst bei 20-facher Vergrößerung eingestellt. Bei dieser Vergrößerung wird eine ca. 1cm^2 große Probe ganz auf dem Bildschirm abgebildet, und deutlich gesetzte Markierungen lassen sich gut erkennen.

Eventuell ist eine 50 oder 100-fache Vergrößerung zum Auffinden der kleineren Markierungen erforderlich. In Verbindung mit dem gefärbten Schnitt im Lichtmikroskop ist, falls erforderlich, eine weitere Eingrenzung des zu untersuchenden Bezirkes möglich.

Die weitere Untersuchung erfolgt bei 2000-facher Vergrößerung. Hierbei sind die Alveolarstruktur, Septen, Fibrosen, aber auch Makrophagen, Erythrozyten und freiliegendes Fremdmaterial meist eindeutig zu identifizieren. Die Septen und Fibrosen bestehen aus einem unterschiedlich dichten, sich durchflechtenden Fasernetz. Die einzelnen Fasern sind unregelmäßig geformt, im Unterschied etwa zu Asbestnadeln, die eine glattere, gleichmäßigere Gestalt besitzen und selbst in Fibrosen freiliegend bei 2000-facher Vergrößerung meist noch gut erkennbar sind. Die Erythrozyten sind meist kugelig mit glatter Oberfläche und je nach Anschnitt zentraler Eindellung. Die Makrophagen variieren stärker in Form und Größe und liegen teilweise in Gruppen so dicht zusammen, daß die Zellgrenzen bei 2000 oder 5000-facher Vergrößerung nicht erkennbar sind. Die Oberfläche ist stark gelappt mit zahlreichen, teils schmalen, teils breiteren Fortsätzen (Abb. 5).

Größere, nicht phagozytierbare Fremdpartikel werden oft von mehreren Makrophagen umhüllt, dabei kann ein Teil des Fremdkörpers unbedeckt aus der Makrophagengruppe herausragen. Häufig ist dies

bei der Asbestose zu beobachten (Abb. 6).

Das Fremdmaterial läßt sich , meist ohne optisch sichtbar zu sein, intrazellulär in den Makrophagen nachweisen. Teilweise liegt es aber auch frei, in größeren oder kleineren bröckeligen, kristallinen oder halbkristallinen Partikeln frei in Alveolen, Septen und Fibrosen. Verunreinigungen durch den Verarbeitungsprozeß können an der Struktur und Lokalisation meist als solche identifiziert werden. Bei den übrigen extrazellulären Ablagerungen dürften die Makrophagen teils infolge des Verarbeitungsprozesses, teils auch intravital als Folge der Zytotoxizität bestimmter phagozytierter Substanzen zerfallen sein.

Die rasterelektronenmikroskopischen Bilder, auch in Verbindung mit Elementverteilungskurven, können bei dem von uns benutzten Mikroskop AM R 1000 der Firma Leitz mit einer fest montierten Leica- oder Polaroidkamera photographiert werden.

Die Elementanalyse an Makrophagen und Fremdkörpern erfolgt zur Orientierung zunächst bei 2000-facher Vergrößerung als Partialanalyse, wobei ein $4 \times 4 \text{ cm}^2$

großes Feld abgerastert wird. Das entsprechende, auf dem Monitor erscheinende Analysenspektrum gibt Aufschlüsse über höhere Elementkonzentrationen. Spurenelemente, wie z.B. Kupfer, Titan usw., sind dabei meist nicht nachweisbar, da bei steigender Zählrate, d.h. einer dichten zeitlichen Folge von Impulsen, die Energieauflösung des Silizium-Lithium-Detektors abnimmt. Das Ergebnis ist eine Verbreiterung der Linien im Spektrum und eine Erhöhung des Untergrundes und damit ein Verlust an Information.

Bei positiven Befunden wird deshalb eine Punktanalyse bei 5000-facher Vergrößerung durchgeführt. Das dabei auf dem Monitor erscheinende Analysenspektrum liefert für die meisten Elemente gut abgrenzbare Röntgenenergielinien.

Bereiche des Spektrums können auf dem Bildschirm verschieden markiert werden, und zwar beliebig viele als normale Energiefenster und jeweils eins als "Super-Fenster". Auf dem von uns benutzten Schwarz-weiß-Monitor erscheint das normale Energiefenster als gestreifte Fläche, das "Super-Fenster" als homogen-weiße Fläche. Das "Super-Fenster" wird sowohl für die Erzeugung von Element-

verteilungsbildern und Konzentrationsprofilen als auch zur Flächenintegration für semiquantitative Vergleiche benötigt. Die Analysenphotos auf dem Schwarz-weiß-Monitor werden mit einer auf einem Stativ fest montierten Mamija-Kamera photographiert.

Abbildung 7 zeigt ein für unsere Versuche typisches energiedisperses Röntgenspektrum (Abb. 7).

Die horizontale Skala ist in KeV geeicht und läßt sich je nach gewünschter Auflösung auf 10, 20 oder 40 eV/Kanal einstellen. Im vorliegenden Fall ist sie auf 10 KeV eingestellt. Die horizontale Skala ermöglicht die Identifikation des Elementes entsprechend der charakteristischen Röntgenlinien. Auf der vertikalen Skala läßt sich die Impulszahl ablesen. Sie läßt sich zwischen 128 und 262 k Impulsen pro volle Skala verstellen.

Oberhalb des Spektrums finden sich eine Reihe von Zahlen und Buchstaben, die Aufschluß über das jeweils laufende Programm geben. Im vorliegenden Fall steht in der obersten Reihe die Kontrollnummer des Präparates und das Datum. (MK) bedeutet, daß das MLK-Markierungsprogramm eingestellt ist.

Es folgen die Energieschale, die Ordnungszahl und das chemische Symbol des im Analysenspektrum markierten Elementes.

In der zweiten Zeile bedeutet 0×10^{-05} , daß das Programm frei läuft und nicht nach Erreichen einer bestimmten Zeit (in Sekunden) oder eines bestimmten Integrals (in Impulsen) automatisch stoppt. Das Programm muß bei der vorliegenden Eingabe jeweils mit der Hand gestoppt werden. Mit einer hier nicht eingestellten, besonderen Markierung läßt sich die genaue Energie in KeV des jeweiligen Elementes ablesen - hier 0.00 KeV. In der zweiten Zeile rechts läßt sich die Meßzeit - hier 30 Sekunden - ablesen. In der dritten Zeile steht der vertikale Skalenfaktor (Anzahl der Röntgenstrahlenimpulse pro Vollskala), die eingelesenen Speicherhälften - hier A + B, also alle 10^{24} Kanäle - und der horizontale Skalenfaktor (eV pro Kanal) - im vorliegenden Fall 10 eV pro Kanal oder 10 KeV pro Gesamtskala.

Üblicherweise wurde in den Untersuchungen die Elementanalyse an ca. 15 - 20 verschiedenen Stellen einer Probe durchgeführt, und zwar jeweils an rasterelektronenmikroskopisch identifizierten Makrophagen oder an Fremdmaterial. Ergab die

Analyse besondere Befunde, z.B. Elemente wie Mangan, Zink usw., oder bestand primär eine spezielle Fragestellung, z.B. die Identifizierung unklarer Pigmentablagerungen, wurden mehr Stellen untersucht. Bei jeder Probe erfolgte eine Leerkontrolle der Ultrapanfolie, außerdem wurden während der Analyse laufend Vergleichsmessungen zum Untergrund durchgeführt, um Verunreinigungen durch den Verarbeitungsprozeß zu erfassen (Abb. 8). Außer bei den üblichen Elektrolyten, die sich unter anderem mit den Puffern der Fixiermittel überlagern können und folglich besondere Identifizierungsprobleme stellen, gibt es jedoch nur selten Zweifel bei der Suche unbekannter Stoffe im Lungengewebe. Die Analyse wurde, wie bereits oben erwähnt, bei 5000-facher Vergrößerung durchgeführt. Die Meßdauer betrug jeweils 30 Sekunden, die Energieauflösung meist 10 eV/Kanal. Eingelesen wurden jeweils beide Speicherhälften, also alle 10^{24} Adressen. Über jede Untersuchung wurde Protokoll geführt, typische Analysenphotos photographiert. Abbildung 9 zeigt das von uns benutzte Leitz Elektronenmikroskop mit dem ange-

geschlossenen Analysensystem, Abbildung 10 die Bedienungseinheit des Analysensystems.

Aus der Beschreibung der allgemeinen und speziellen Methodik geht hervor, daß die Analysenergebnisse der einzelnen Proben isoliert betrachtet, keine Aussage über den quantitativen Elementgehalt erlauben. In Verbindung mit den lichtmikroskopischen Befunden und den Elementverteilungsprofilen bzw. Elementverteilungsbildern sind jedoch Rückschlüsse möglich. Abbildung 11 zeigt ein typisches Elementverteilungsprofil, Abbildung 12 ein typisches Elementverteilungsbild des gleichen Falles. Bei der Bewertung der Untersuchungsergebnisse wurden die oben genannten Befunde entsprechend mit berücksichtigt.

Ergab die Elementanalyse in 30 Sekunden eine durchschnittliche Impulsrate unter 128, wurde der Anteil als mäßig (+) bezeichnet, bei einer Impulsrate zwischen 128 und 256 als hoch (++), über 256 als sehr hoch (+++) bezeichnet.

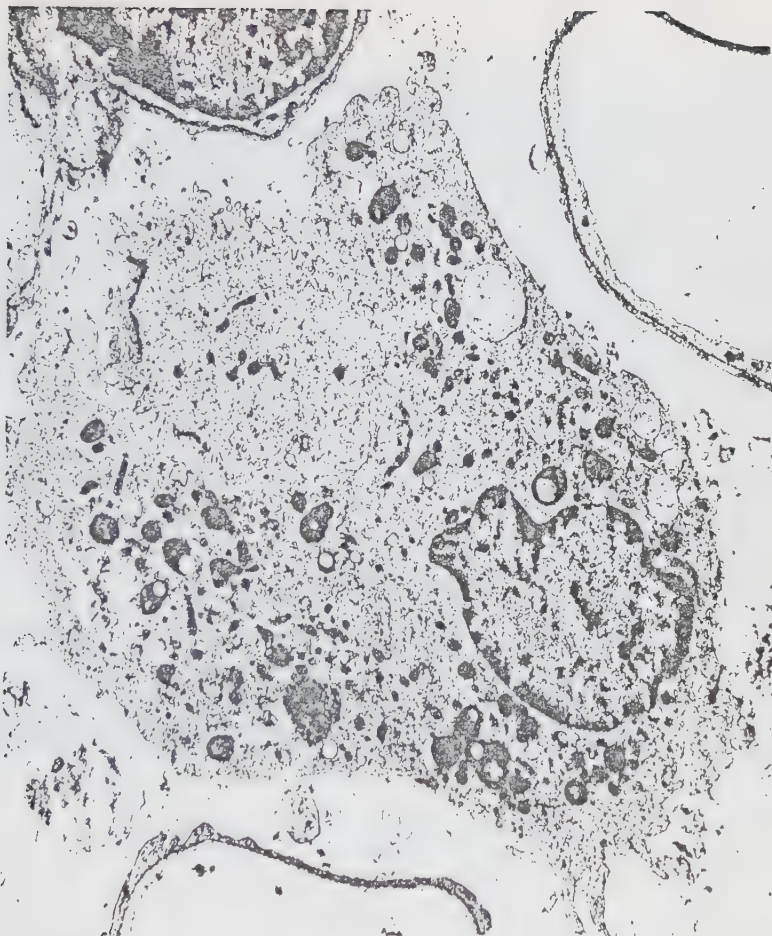


Abb. 4: Elektronenmikroskopische Aufnahme.
Intraalveolärer Makrophag, dicht
beladen mit Phagolysosomen und Sub-
stanzen in verschiedenen Abbaustufen.

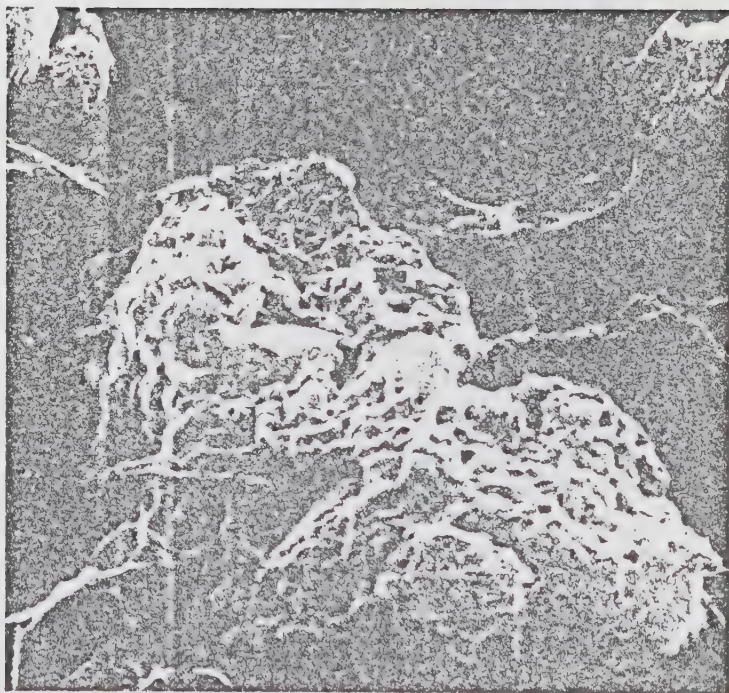


Abb. 5: Rasterelektromikroskopische Aufnahme
einer Alveolarmakrophage.
Vergr.: Ca. 10.000 : 1



Abb. 6: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme,
partiell von einer Makrophage umschlossene
Asbestnadel.
Vergr.: Ca. 2.000 : 1

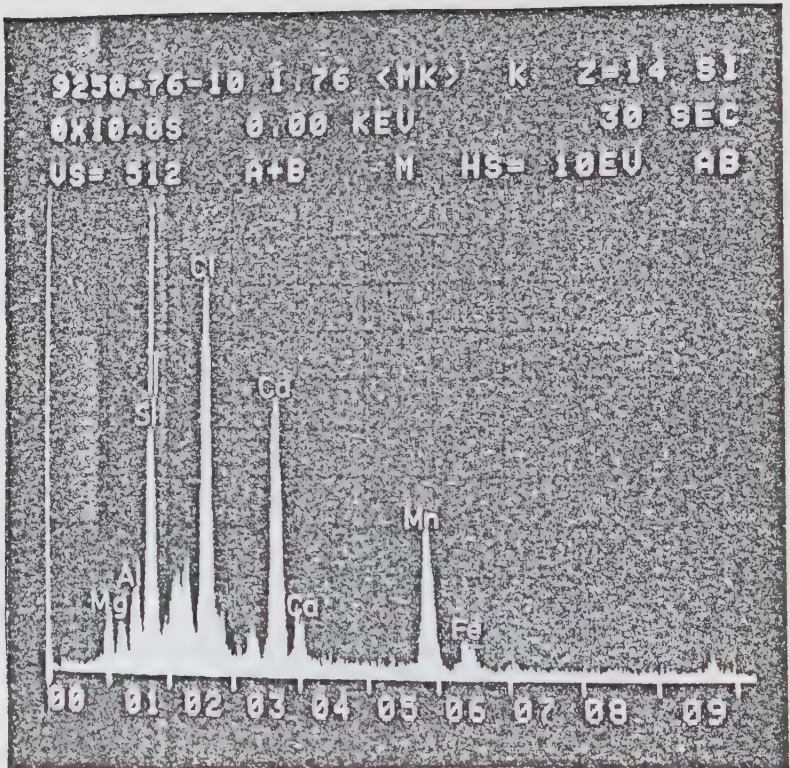


Abb. 7: Typisches energiedisperses Röntgenspektrum.
Abphotographiert vom Schwarz-weiß-Video-
monitor.

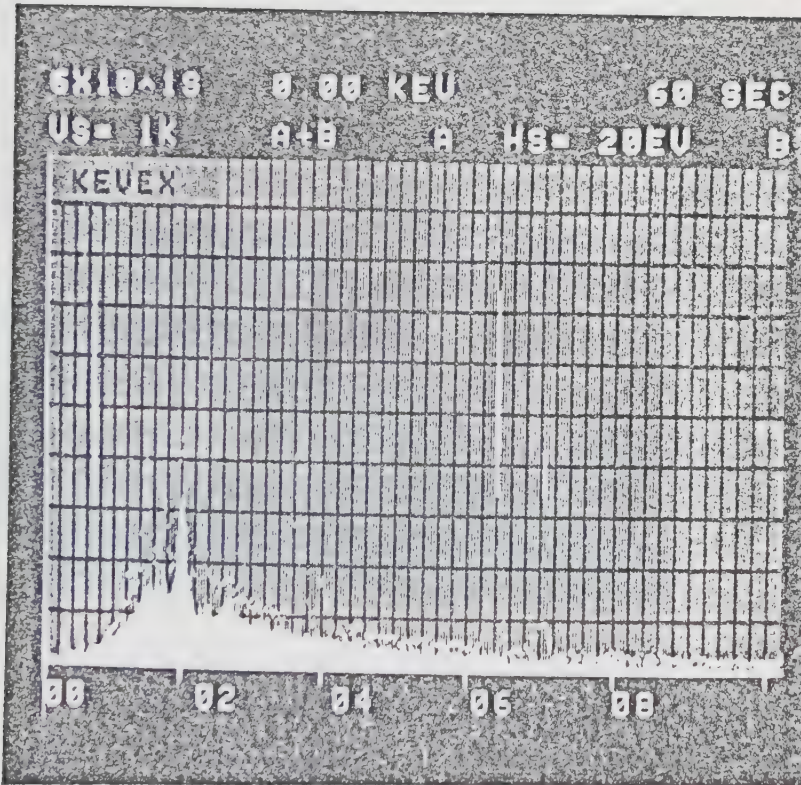


Abb. 8: Typisches energiedisperses Röntgenspektrum des Untergrundes (helle Fläche) mit gleichzeitiger Darstellung eines Röntgenspektrums einer Fremdblagerung (gepunktete Linie).

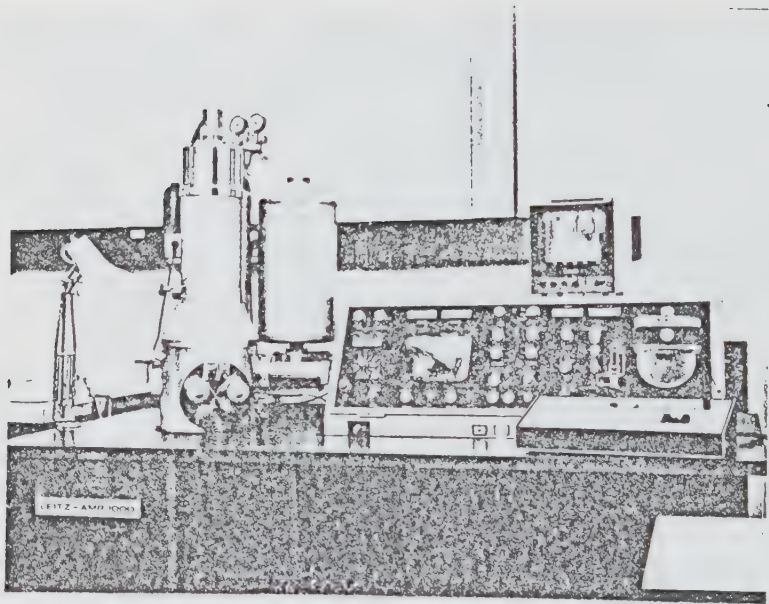


Abb. 9: Leitz Elektronenmikroskop mit angeschlossenen Analysensystem 5100 der Kevex Corporation.

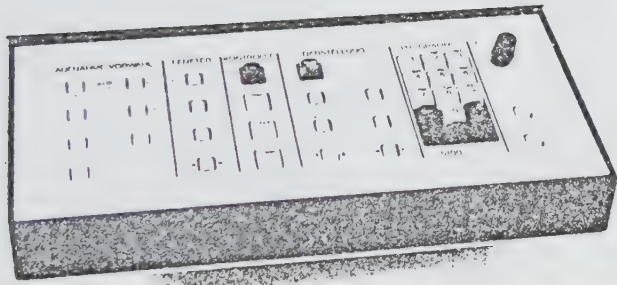


Abb. 10: Bedienungseinheit des Analysensystems 5100 der Kevex Corporation.

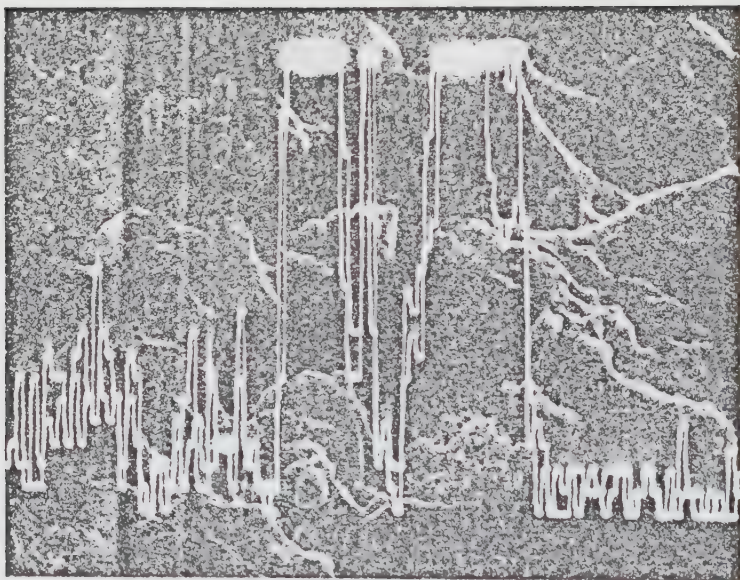


Abb. 11: Typisches Elementverteilungsprofil für
Silizium im Line-Scan.
Hohe Elementablagerung in den Makrophagen.
Vergr.: Ca. 2.000 : 1



Abb. 12: Typisches Elementverteilungsbild von
Silizium im Line-Scan.
Hohe Elementablagerung in den
Makrophagen.
Vergr.: Ca. 5.000 : 1

II. Material der Untersuchungen

Insgesamt wurden mit der rasterelektronischen energiedispersen Röntgenmikroanalyse 57 Lungenbiopsien aus dem Jahre 1976, 8 Lungenschnitte aus Sektionslungen sowie Proben zweier, uns zur Zusatzbegutachtung zugeschickter Lungen untersucht.

Bei 5 Biopsie- und 4 Sektionspräparaten sowie den beiden oben genannten Lungen wurde die Analyse zur Aufklärung unklarer Pigmentablagerungen bzw. als Versuch einer ätiologischen Klärung unklarer Fibrosen durchgeführt. In einem weiteren Fall handelte es sich um eine besonders ausgeprägte Asbestose, die sowohl rasterelektronenmikroskopisch als auch mit der Röntgenmikroanalyse besonders gut exemplarisch auswertbar war. Im übrigen wurden zunächst willkürlich alle, wenigsten knapp linsengroßen Gewebeproben untersucht, später nur noch solche, in denen lichtmikroskopisch nennenswerte Pigmentablagerungen nachweisbar waren. Bei größeren Proben wurden entsprechend dem lichtmikroskopischen Befund ausgewählte Teile der auf Ultrapanfolien aufge-

zogenen, entparaffinisierten Schnitte herausgeschnitten und untersucht.

Bei den Untersuchungen ging es zunächst darum, den qualitativen und semiquantitativen Elementgehalt der Lungen zu bestimmen, um dann anhand des pathologisch-anatomischen Befundes zu untersuchen, inwieweit ein ursächlicher Zusammenhang zwischen den Staubablagerungen und der jeweiligen Lungenerkrankung bestand. Sinn dieser Untersuchungen war es, die Bedeutung und Aussagekraft der Elementanalyse vor allem bei fibrosierenden Lungenerkrankungen zu bestimmen.

III. Ergebnisse der Untersuchungen

Ein sehr häufig in der Natur vorkommendes Element ist das Silizium, das in einer Vielzahl verschiedener Verbindungen vorliegt. Nur wenige von ihnen sind pathogen. Fibrogen wirken vor allem Quarz und Asbest, in geringerem Maße auch Talk und Tridymit.

In den von uns untersuchten Lungenproben fanden sich in der Mehrzahl wenigstens deutliche, in fast der Hälfte sogar hohe bzw. sehr hohe Siliziumablagerungen. Hohe bzw. sehr hohe Impulse ließen sich, wie zu erwarten, bei allen Silikosen und Staubfibrosen (5 Fälle) und bei allen Asbestosen (4 Fälle) nachweisen, außerdem in 4 Fällen mit idiopathischer Lungenfibrose.

In einem Fall (Nr. 11) bestand das Biopsiematerial makroskopisch und mikroskopisch aus bröckeligem Material. Rasterelektronenmikroskopisch waren Einzelheiten kaum erkennbar. Teilweise fanden sich kristalline Ablagerungen. Die energiedisperse Röntgenmikroanalyse ergab hohe Siliziumablagerungen mit wechselnden, meist hohen Aluminium- und geringen Schwefel-, Titan- und Eisenanteilen (Abb. 13).

Da in diesem Fall eine enge räumliche Beziehung zwischen den Elementablagerungen und der Fibrose bestand, ist ein ursächlicher Zusammenhang wahrscheinlich.

Ebenfalls reichlich Silizium mit hohen Aluminium-, Schwefel- und teilweise Titananteilen, außerdem Spuren von Eisen und Kupfer, waren in einem Längsschnitt abgelagert, in dem lichtmikroskopisch eine stärkere subpleurale und peribroncho-vasale Fibrose mit zum Teil reichlich Pigmentablagerungen nachweisbar war (Nr. 46).

Zwei weitere Fälle mit idiopathischer Lungenfibrose (Nr. 59, 60), bei denen ebenfalls ein Zusammenhang mit hohen Siliziumablagerungen zu diskutieren ist, werden an anderer Stelle ausführlicher besprochen.

Hohe Siliziumimpulse in Kombination mit reichlich Spurenelementen ließen sich bei einer chronischen Lymphadenitis und einer nodulären Bronchiolitis nachweisen.

In 11 Fällen konnte keine Korrelation zwischen den hohen und sehr hohen Siliziumablagerungen und den pathologischen Lungenprozessen festgestellt werden. Dreimal war zwar reichlich anthrakotisches Pigment

abgelagert, Fibrosen fanden sich jedoch in keinem dieser Fälle.

In einem weiteren Fall (Nr. 38) ergab die Analyse sehr hohe Silizium- und oft hohe Titan- und Eisenimpulse mit auffallend hohen Aluminiumanteilen (Abb. 14). Rasterelektronenmikroskopisch sah man reichlich Makrophagen, vereinzelt auch nadelförmige Gebilde. Histologisch lag ein Plattenepithelkarzinom vor. Eine Fibrose ließ sich in der kleinen, von Tumorzellen weitgehend zerstörten Gewebsprobe nicht nachweisen.

Ein Überblick über alle Fälle mit hohen Siliziumablagerungen gibt Tabelle I.

Wie die Untersuchungsergebnisse zeigen, ist entsprechend dem ubiquitären Vorkommen Silizium häufig in den Lungen abgelagert. Zumal wenn es sich nur um geringe Ablagerungen handelt, ist der Aussagewert der Analyse entsprechend gering. Bei allen Silikosen, Staubfibrosen und Asbestosen waren zwar stets hohe Siliziumanteile nachweisbar, umgekehrt gingen hohe Siliziumablagerungen nicht unbedingt mit fibrosierenden Lungenerkrankungen

einher. Eine Möglichkeit der Deutung dieser Befunde ist, daß Frühstadien erfaßt wurden und die Stäube noch nicht zu fibrosierenden Gewebsreaktionen geführt hatten. Wahrscheinlich ist jedoch, daß die Elemente entweder in apathogenen Verbindungen vorlagen oder in den kleinen, meist nur ungezielt entnommenen Biopsieproben Fibrosebezirke nicht getroffen wurden.

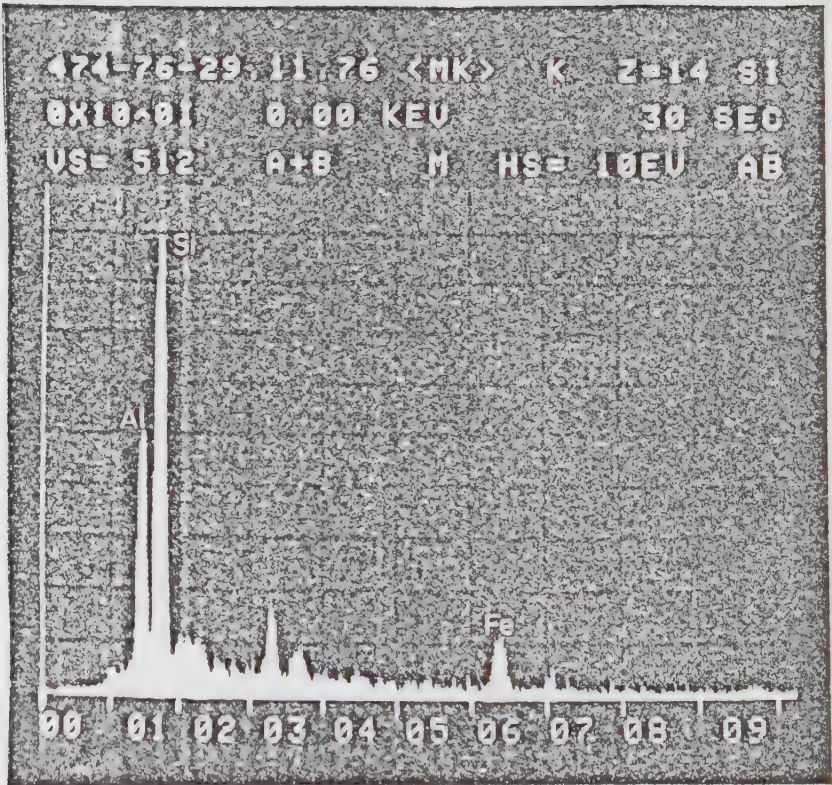


Abb. 13: Typisches energiedisperses Röntgenspektrum.
Fall Nr. 11
Hohe Aluminium (Al)- und Siliziumpeaks (Si).

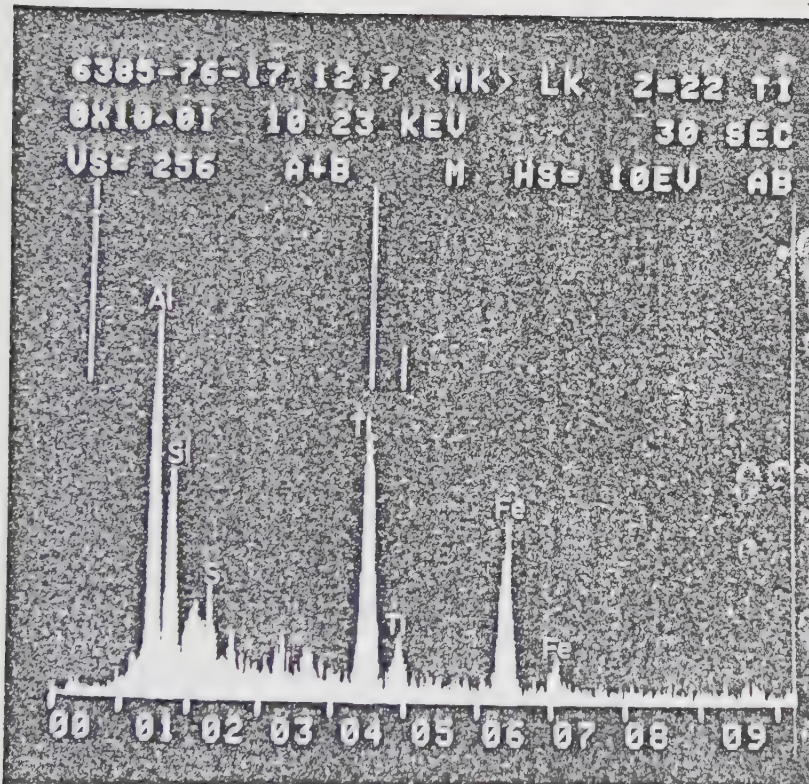


Abb. 14: Typisches energiedisperses Röntgenspektrum.
Fall Nr. 38
Hohe Aluminium (Al)-, Silizium (Si- und
Titanpeaks (Ti).

I. f. d. Nr.	Elementaranalyse						sonstige	pathologisch-anatomische Diagnose
	Si	Al	S	Fe	Ti			
5	+	+	Spur	+				Sarkoidose
6	+	+		Spur				chronische Bronchitis
8	+	+	Spur	Spur	Spur			Anthrako-Silikose
9	+	+		Spur		K		Siliko-Tuberkulose
10	+	+	Spur	Spur		K, Ca		Lungenfibrose mit Asbestnadeln
11	+	+	Spur	Spur	Spur			Lungenfibrose
25	+	+	+	Spur	+	Mg		Anthrakose
28	+	+	+	+	Spur	Zn, Cr, Ca, Na		Bronchiolitis
32	+	+	+	Spur		Mg, K, Ca, Cl		Carcinom, chronische Bronchitis
36	+	+	Spur	Spur		Mg, K, Ca, Cl		Carcinom, Staubfibrose
38	+	+	+	+	+			Carcinom, Anthrakose
39	+	+	+	+				Anthrakose, Sarkoidose
45	+	+	Spur	+		K		Anthrakose
46	+	+	+	Spur	Spur	Ca, Cl		Fibrose
48	+	+	+	+	Spur	Mg, K, Ca, Cl		Asbestose
49	+	+	Spur	+		Mg		Asbestose
50	+	+	Spur					Sarkoidose
51	+	+	+	Spur				Carcinom
55	+	+	+	+		Mg, Mn, Na, K, Ca, Cl		chronische Lymphadenitis
56	+	+		Spur		K, Ca		Tuberkulose
58	+	+		Spur		Mg, Ca, K		Asbestose
59	+	+	Spur	+		K		Lungenfibrose
60	+	+	Spur	Spur	Spur	K, Ca, Cl		Lungenfibrose
63	+	+	+	Spur				Anthrako-Silikose
65	+	+	Spur	Spur		Mg, K		Anthrako-Fibrose

Tab. I: Übersicht über die Fälle mit hohen Siliziumablagerungen.
Aus der Tabelle ist ersichtlich, welche anderen Elemente außerdem
nachweisbar waren.

Als zweithäufigstes Element wurde in den Lungenproben Aluminium gefunden. Hohe Impulsraten wurden bei allen Silikosen, Anthrako-Fibrosen, Asbestosen und in zwei Fällen mit unklaren Lungenfibrosen (Nr. 11, Nr. 60) gemessen. Von wenigen Ausnahmen abgesehen, lag Aluminium stets in Kombination mit noch höheren Siliziumanteilen vor.

Offenbar ist Aluminium häufiger Bestandteil der inhaliierten Mischstäube und kommt als Emissionsstoff in stärker industrialisierten Gegenden in höheren Konzentrationen vor. Auch Persigehl, Kasperek, Klein und Feinendegen fanden eine deutliche Anreicherung von Aluminium in Lungen von Menschen, die im Industriegebiet Duisburg gelebt hatten. Obengenannte Autoren hatten 1976 Lungen von Verstorbenen aus Duisburg und aus dem weniger industrialisierten Köln und Umgebung mittels Neutronenaktivierungsanalyse untersucht und dabei unter anderem eine signifikant höhere Aluminiumablagerung in den Duisburger Proben nachgewiesen (Persigehl, Kasperek, Klein, Feinendegen 1976). Aluminium, besonders Aluminiumhydroxyd,

besitzt eine starke Affinität zum Quarz und bildet ein metallisches Polysilikat auf der Quarzoberfläche. Diese Affinität könnte eine Erklärung dafür sein, daß diese beiden Elemente meist kombiniert vorlagen.

Entsprechend der häufigen Ablagerung, selbst relativ großer Mengen, läßt der Nachweis von Aluminium in den Lungen - zumal wenn gleichzeitig hohe Siliziumanteile vorliegen - nicht ohne weiteres auf eine chronische Aluminiumintoxikation schließen.

Magnesiumsilikate sind in der Natur verbreitet und kommen in zahlreichen Industrieprodukten vor. Pathogenetisch von Bedeutung sind vor allem Talk ($\text{Mg}_3 \text{H}_3 \text{Si}_4 \text{O}_4$), der eine nahe Verwandtschaft mit dem Chrysotilasbest besitzt, und vor allem Asbest.

Magnesiumsilikate ließen sich in 16 der untersuchten Lungenproben nachweisen (Tab. II). Wie die Tabelle zeigt, fanden sich nur in 4 Fällen licht- und rasterelektronenmikroskopisch typische Asbestnadeln. In den anderen Lungen war Magnesium nur in Spuren in Makrophagen abgelagert. Ob es sich dabei um Asbest handelt, läßt sich nicht sagen. Insgesamt waren die Magnesiumanteile selbst bei den Asbestosen auffallend gering. Lediglich in einem einzigen Fall (Nr. 49) wurde Magnesium in höheren Konzentrationen gefunden (Abb. 15).

Der lichtmikroskopische Nachweis von Asbestkörperchen wird im allgemeinen als Hinweis auf eine Asbestexposition gewertet. Tatsächlich gibt es jedoch zahlreiche Substanzen, die ähnlich wie Asbest in den Lungen in "ferruginous bodies"

vorliegen können. Dazu gehören unter anderem Glasfasern, Gips, Talk, Glimmer, Metallspäne. Meist kann erst eine Elementanalyse die Natur dieser Nadeln klären. Asbest- und Talkosekörperchen lassen sich aufgrund der Analyse nicht unterscheiden.

In zahlreichen der untersuchten Lungenschnitten sah man zumindest vereinzelt nadelförmige Gebilde, die teilweise aus magnesiumlosen, eisenhaltigen Silikaten, teilweise aber auch aus Kalzium und Schwefel oder Metallen bestanden. Ein besonders interessanter Fall, wo lichtmikroskopisch ebenfalls Asbestosiskörperchen festgestellt worden waren, wird später genauer behandelt (Nr. 59).

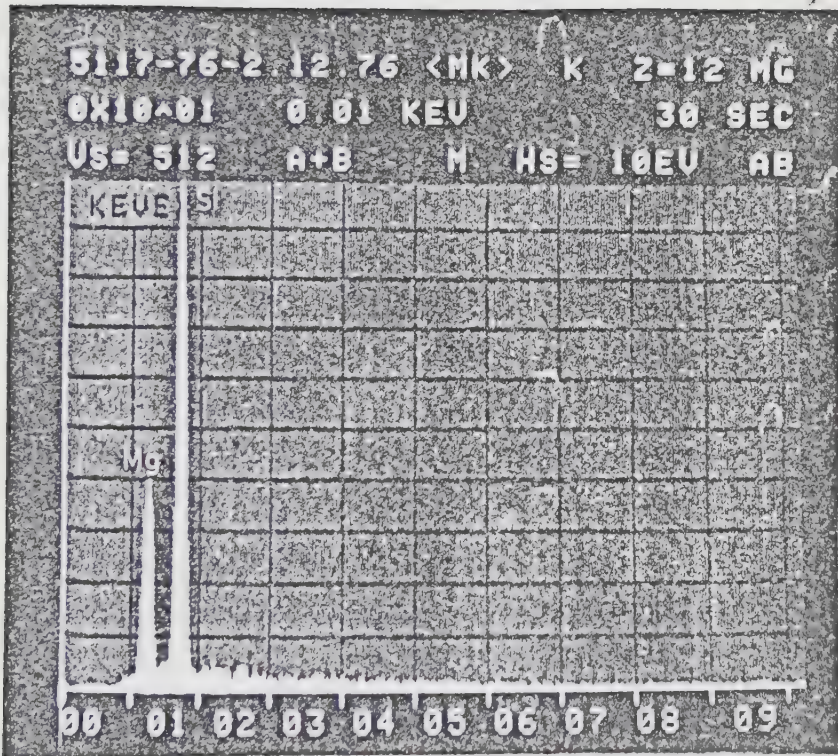


Abb. 15: Typisches energiedisperses Röntgenspektrum einer Asbestnadel.
Fall Nr. 15
Hohe Magnesium (Mg)- und sehr hohe Silizium-peaks (Si).

I fd. Nr.	Elementanalyse					sonstige	Asbest- na deln	pathologisch-anatomische Diagnose
	Mg	Si	Al	S				
48	+	+	+		Fe, K, Ca	ja	Asbestose	
49	+	+	+	Spur	Fe	ja	Asbestose	
58	+	+	+		Fe, K	ja	Asbestose	
8	+	+	+		Fe, K	ja	Anthrako-Silikose	
14	Spur	+	Spur	+	Fe, Ti, Zn	nein	Sarkoidose	
16	Spur	+	+	+	Ti, Zn, Ca, Cl	nein	Carcinom	
20	Spur	+	+	Spur	Fe, K, Ca	nein	Staubfibrose	
29	Spur	+	Spur	+	Ti	nein	Bronchiolitis	
32	Spur	+	+	+	Fe	nein	Carcinom	
36	Spur	+	Spur	Spur	Fe, K, Ca	nein	Staubfibrose	
43	Spur	+	+		Fe	nein	chronische Pneumonie	
44	+	+	+	+	Mn, Zn, Ca	nein	chronische Pneumonie	
52	+	+	+	+	Fe, Mn, Ti, U	nein	Sarkoidose	
60	+	+	+		Fe, Ti	nein	Lungenfibrose	
64	+	+	+	+	Fe, Ca, Cl	nein	Lungenfibrose	
67	Spur	+	+	+	Fe	nein	Staubfibrose	

Tab. II: Übersicht über die Fälle mit Magnesiumablagerungen.
Aus der Tabelle ist ersichtlich, welche anderen Elemente
nachweisbar waren.

Schwefelablagerungen fanden sich in etwa der Hälfte der Lungenproben, mit Ausnahme von neu n jedoch nur in geringen Mengen. Hohe Anteile ließen sich in je zwei Fällen von Bronchiolitis, Sarkoidose (Abb. 16) und unklaren Lungenfibrosen sowie in je einem Fall von chronisch karnifizierender Pneumonie und chronischer Lymphadenitis nachweisen. Neben zum Teil hohen Silizium-, Aluminium- und Kalziumanteilen lagen meist noch reichlich Spurenelemente vor.

Eine Übersicht über die Fälle mit hohen Schwefelablagerungen gibt Tabelle III.

In vier der angeführten Fälle ist ein mitursächlicher Zusammenhang zwischen den hohen Schwefel- sowie in den Spurenelementablagerungen und der jeweiligen Lungenerkrankung zu diskutieren (Fall Nr. 18, 28, 29, 55).

Im Fall Nr. 64 handelte es sich um eine ausgeprägte Lungenfibrose vom Typ Hamman Rich. Lichtmikroskopisch ließ sich massenhaft feinkörniges

Pigment sowohl intraalveolär als auch interstitiell nachweisen, das der Analyse nach aus folgenden Elementen bestand: Sehr hohe Anteile an Schwefel und Kalzium, geringe an Silizium, Spuren an Magnesium, Aluminium, Eisen und Natrium.

Da staubförmige Schwefelverbindungen nicht zu fibrosierenden Lungenerkrankungen führen, muß angenommen werden, daß die Staubablagerungen sekundär in die minderbelüfteten Lungenabschnitte erfolgten.

In zwei Fällen (Nr. 14, 55) handelte es sich um die Lungenproben zweier Landwirte. Die verschiedenen Elemente ließen sich sowohl in Makrophagen als auch diffus im Gewebe freiliegend nachweisen. Möglicherweise sind die Ablagerungen Folge langjähriger Mineraldüngeranwendung.

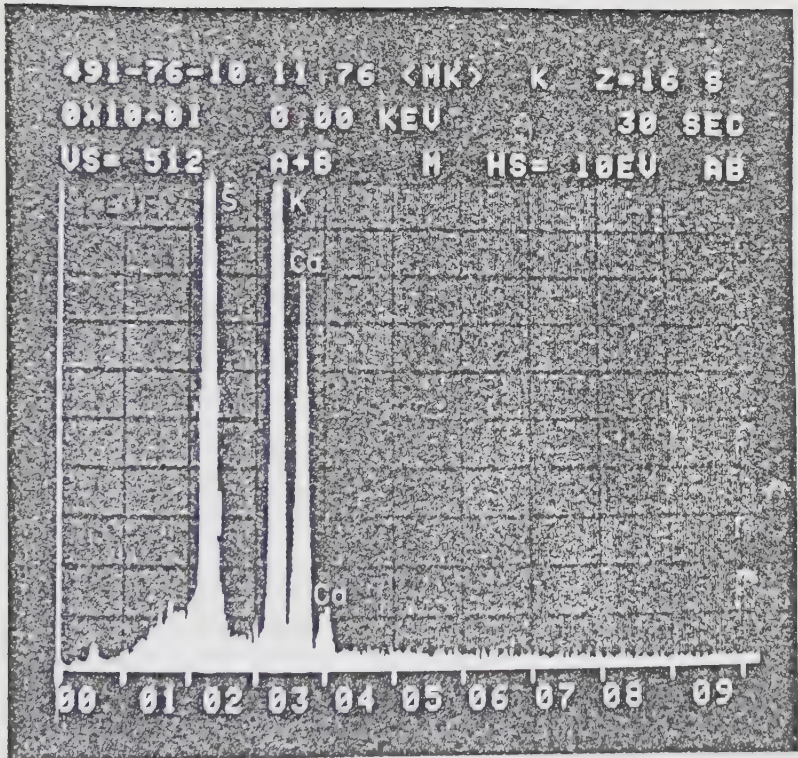


Abb. 16: Typisches energiedisperses Röntgenspektrum.
Fall Nr. 12
Sehr hohe Schwefel (S)-, Kalium (K)- und
Kalziumpeakes (Ca).

I fd. Nr.	Elementanalyse					sonstige	pathologisch-anatomische Diagnose
	S	Ca	Si	Al			
12	+	+	Spur		K	Sarkoidose	
14	+	+	+	+	Fe, Ti, Zn, Cl	Sarkoidose	
18	+	+	Spur		Fe, Mg, P, Cl	chronische Pneumonie	
28	+	+	+	+	Ti, Zn, Ni, Cr	Bronchiolitis	
29	+	+	+	Spur	Fe, Ti, P	Bronchiolitis	
46	+	+	+	+	Fe, Ti, P	fragliche Pneumokoniose	
55	+	+	+	+	Fe, Mg, Mn, K, Cl, Na	chronische Lymphadenitis	
64	+	+	+	+	Fe, Mg, Na	Lungenfibrose	

Tab. III: Übersicht über die Fälle mit hohen Schwefelablagerungen.
Aus der Tabelle ist ersichtlich, welche anderen Elemente
außerdem nachweisbar waren.

Titan ließ sich in 17 Lungen meist nur in Spuren nachweisen. Nur in den bereits erwähnten Fällen von Bronchiolitis (Nr. 28, 29), fraglicher Pneumokoniose (Nr. 46) sowie in der Lunge eines Schweißers (Nr. 25) fanden sich größere Mengen Titan, stets neben zahlreichen anderen Elementen.

Titan ist das zehnthäufigste Element im Mineralreich und in der Industrie weit verbreitet. Eine lungenpathogene Wirkung ist fraglich.

In den oben genannten Fällen liegt ebenfalls kein sicherer Hinweis dafür vor. Außer einer stärkeren Staubablagerung fand sich in der Schweißberlunge kein pathologischer Prozeß. Die Fibrose im Fall Nr. 46 dürfte auf die hohen Siliziumablagerungen zurückzuführen sein. Bei der Bronchiolitis waren noch zahlreiche Spurenelemente sowie reichlich Schwefel abgelagert.

Zink, Chrom, Nickel, Mangan und Kupfer ließen sich in insgesamt 8 Lungenproben jeweils nur in Spuren nachweisen.

Wie die Übersichtstabelle IV zeigt, waren in allen Fällen neben den Spurenelementen insbesondere Titan und Schwefel vorhanden. Abbildung 17 und Abbildung 18 zeigen typische energiedisperse Röntgenspektren zweier oben genannter Fälle.

Die Akkumulation von Spurenelementen kann Ursache sowohl akuter als auch chronischer Lungenerkrankungen sein. Unter anderem gibt es eine sog. Manganeumonie, eine Hartmetallunge usw. Chromverbindungen, insbesondere Schwermetallverbindungen der Chromsäure mit Blei und Zink, werden für die Entstehung von Lungenkrebs verantwortlich gemacht.

In den untersuchten Proben bestand kein Hinweis auf durch Spurenelemente verursachte Erkrankungen. Allenfalls ist ein mitursächlicher Zusammenhang bei der Bronchiolitis und der chronischen Lymphadenitis möglich.

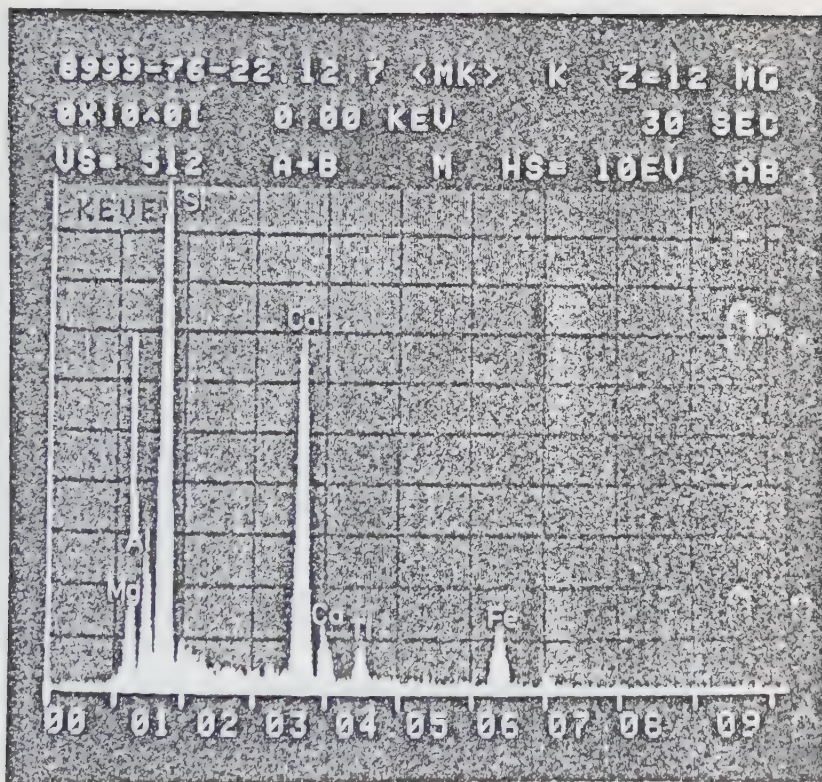


Abb. 17: Typisches energiedisperses Röntgenspektrum.
 Fall Nr. 52
 Sehr hohe Silizium (Si)- und Kalziumpeaks (Ca)
 geringe Ablagerungen von Magnesium (Mg),
 Aluminium (Al) und Eisen (Fe).

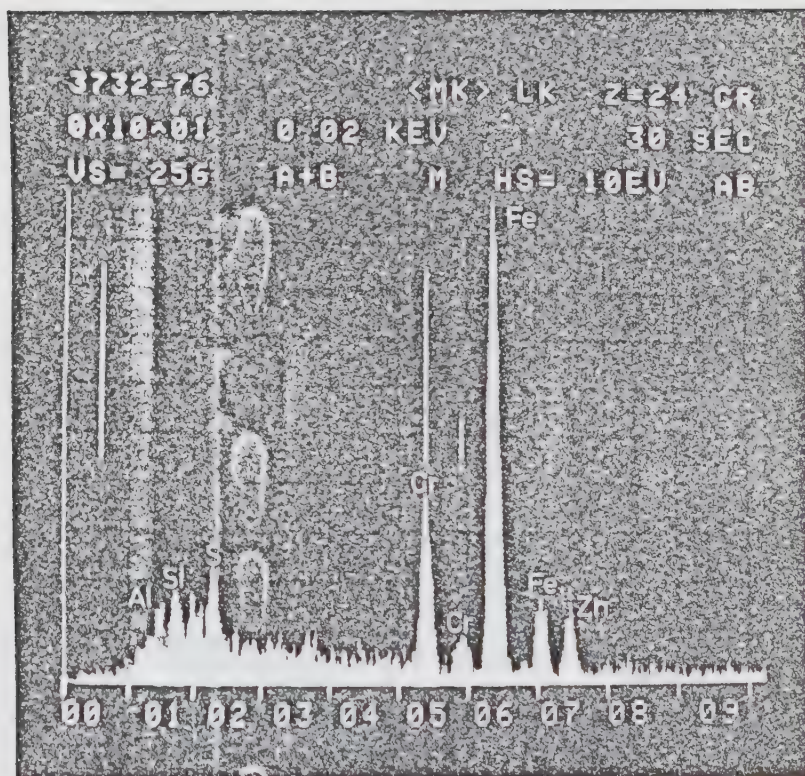


Abb. 18: Typisches Energiedisperses Röntgenspektrum.
 Fall Nr. 28
 Hoher Eisenpeak (Fe), deutliche Ablagerung
 von Chrom (Cr) und Nickel.

Iff. Nr.	Elementanalyse										pathologisch-anatomische Diagnose
	Zn	Cr	Ni	Mn	Cu	Mg	Ti	Si	Al	sonstige	
14	Spur					Spur	Spur	+(+)	Spur	S, Fe, Ca, K	Sarkoidose (Landwirt)
16	Spur					Spur	Spur	+	+	S, Ca, K, Cl	umschriebene Fibrose
28	Spur	Spur	Spur				+	+	+	S, Ca, K	noduläre Bronchiolitis
37		Spur						+(+)	Spur	S, K	stärkere Anthrakose
44	Spur			+		+		+	+	S, Fe, Ca, Cl	umschriebene Fibrose
46					Spur		++	+	+	S, Fe, Ca, K	Fibrose
52				+		+	+	+(+)	+	S, Fe, Ca, K, U	Sarkoidose
55				+		+	+	+(+)	Spur	S, Fe, Ca, K, Cl	chronische Lymphadenitis (Landwirt)

Tab. IV: Übersicht über die Fälle mit Spurenelementablagerungen.
Aus der Tabelle ist ersichtlich, welche Elemente in
höheren Konzentrationen nachweisbar waren.

Wie die Untersuchungen gezeigt haben, finden sich bei allen Pneumokoniosen verschiedener Schweregrade hohe Elementablagerungen. Darüber hinaus waren auch bei einigen unklaren Fibrosen hohe Elementablagerungen in enger räumlicher Beziehung zu den pathologischen Veränderungen nachzuweisen, so daß ein ursächlicher Zusammenhang wahrscheinlich ist. Gegebenenfalls kann eine genaue Berufsanamnese hier zur Klärung beitragen. In 5 Fällen könnten die nachgewiesenen hohen Schwefel-, gegebenenfalls auch die Spurenelemente für die Entwicklung chronisch-entzündlicher Lungenerkrankungen mit verantwortlich sein.

Tabelle 5 gibt eine Übersicht über Lungenerkrankungen wieder, bei denen ein Zusammenhang mit Elementablagerungen besteht bzw. zu diskutieren ist.

Andererseits konnte in 14 Lungenproben trotz hoher Elementablagerung kein entsprechender pathologischer Befund erhoben werden. Entweder lagen die Elemente hier in apathogenen Verbindungen vor oder verändertes Gewebe war bei der Biopsieentnahme nicht getroffen worden.

Ird. Nr.	pathologisch-anatomische Diagnose	Elementaranalyse						Zusammenhang
		Si	Al	S	Ti	sonstige		
8	Anthrako-Silikose	++(+)	++(+)	Spur	+	Fe, Mg	sicher	
63	Anthrako-Silikose	++(+)	++	Spur	+	Fe, La, K, Cl		
9	Siliko-Tuberkulose	+	++(+)			Fe, K		
20	Staubfibrose	++	++(+)	+	+	Fe, Ca		
25	Staubfibrose	++(+)	++(+)		+	Fe		
33	Staubfibrose	++	+	Spur	Spur	Ca		
36	Staubfibrose	++(+)	++(+)	Spur		Fe, Ca, K		
39	Staubfibrose	++	+	+		Fe		
65	Staubfibrose	++	++	+		Fe, Ca		
67	Staubfibrose	++(+)	+	+	+	Fe, Mg, Ca, K		
59	Asbestose + Staubfibrose	++(+)	++(+)	Spur		Fe	wahrscheinlich	
48	Asbestose	++	++(+)	Spur	+	Fe, Mg, Ca		
49	Asbestose	++	(+)			Fe, Mg		
58	Asbestose	++	+		+	Mg, Ca, K		
10	Fibrose + Asbestnadeln	++(+)	++(+)	Spur		Fe, Ca		
11	Fibrose	++(+)	++		+	Fe		
46	fragliche Pneumokomiose	++	++	++	+	Fe, Ca, Cl		
60	Fibrose	++(+)	++(+)	Spur		Fe, Ca		
13	chronische Pneumonie	++(+)	++(+)		+	Fe	zu diskutieren	
18	chronische Pneumonie	+	+	++(+)		Fe, Mg, Ca		
28	Bronchiolitis	+	+	++	+	Zn, Cr, Ni, Ca		
29	Bronchiolitis		(+)	++	+	Ca		
55	chronische Lymphadenitis	++(+)	++(+)	++		Fe, Mg, Mn, Ca, Na, K, Cl		

Tab. V: Übersicht über die Fälle, bei denen ein ursächlicher Zusammenhang zwischen den Elementablagerungen und der Lungenerkrankung besteht.

Im Folgenden werden einige, besonders eindrucksvolle Fälle eingehender behandelt, an denen sich die Möglichkeiten, aber auch die Grenzen der energiedispersen Röntgenmikroanalyse gut veranschaulichen lassen.

In einem Fall (Nr. 48) handelte es sich um die Lunge einer Patientin, die 1976 an den Folgen einer Asbestose mit Pleuramesotheliom verstorben war. Von 1925 - 1939 hatte sie in einer Asbestspinnerei gearbeitet. Erst 6 Monate vor ihrem Tode, also fast 40 Jahre nach Aufgabe ihrer Tätigkeit, wurde eine schwere Asbestose klinisch diagnostiziert.

Makroskopisch und lichtmikroskopisch fand sich eine ausgedehnte Fibrose, besonders der linken Lunge, mit bis zu 2 cm dicken, teilweise knochenharten Pleuraverschwartungen (Abb. 19). Intra-alveolär und in der Fibrose lagen sehr zahlreiche, typische Asbestosiskörperchen (Abb. 20, 21, 22). Auf dem Boden der Asbestose hatte sich ein ausgedehnt wachsendes, polymorphes Pleuramesotheliom entwickelt.

Im Rasterelektronenmikroskop ließen sich reichlich Makrophagen und Asbestnadeln sowohl intra-alveolär als auch in der Fibrose nachweisen. Die Asbestnadeln lagen teilweise frei im Gewebe, teilweise steckten sie einzeln oder zu mehreren in einer Gruppe von Makrophagen. Bei 1000-facher und 2000-facher Vergrößerung erschienen sie meist als stäbchenförmige Gebilde mit abgeflachten Enden und relativ glatter Oberfläche (Abb. 23 - 26). Bei stärkerer Vergrößerung war teilweise deutlich eine Fibrillenstruktur erkennbar. Um die Asbestnadeln fand sich manchmal ring- bzw. spiralenförmig, meist aber nur mehr in fleckförmigen Resten eine Umhüllung, die in der energiedispersen Röntgenmikroanalyse neben reichlich Phosphor und Kalzium hohe bis sehr hohe Eisenimpulse ergab (Abb. 25). Offenbar handelte es sich dabei um Reste des Eiweiß-Eisenmantels, der wahrscheinlich infolge des Bearbeitungsprozesses partiell zerstört worden war.

Die Analyse sowohl der Makrophagen als auch der Asbestnadeln ergab hohe bis sehr hohe Anteile an Silizium mit wechselnden, meist niedrigen

Anteilen an Magnesium, Aluminium, Eisen, Schwefel, Titan, Kalzium und Kalium. Insgesamt waren die Magnesiumanteile auffallend gering.

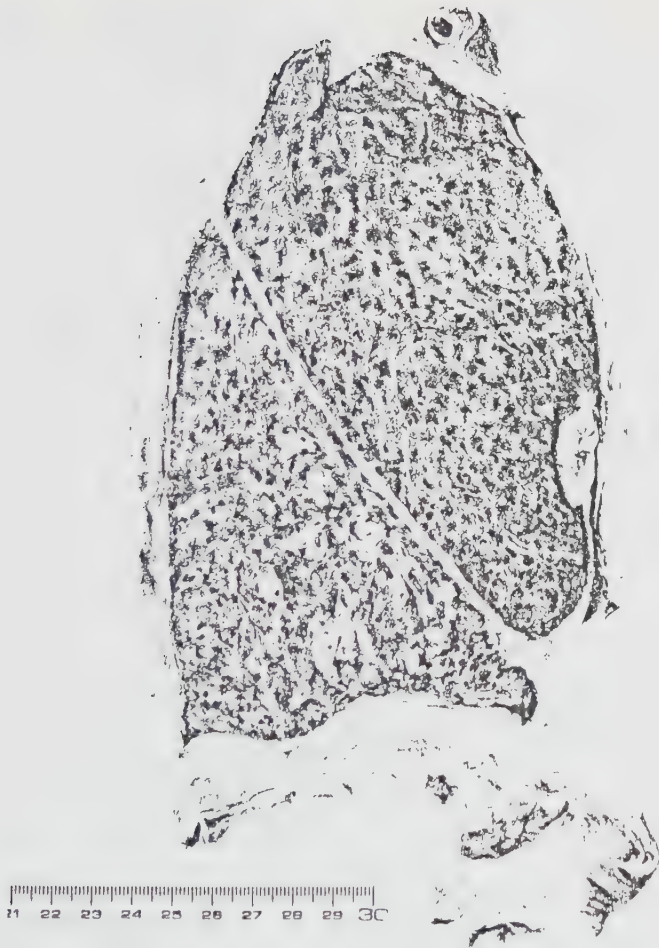


Abb. 19: Asbestose mit Pleuramesotheliom
linke Lunge.
Fall Nr. 48



Abb. 20: Lichtmikroskopische Aufnahme einiger
interstitiell liegender Asbestosis-
körperchen.
Fall Nr. 48
Vergr.: Ca. 50 : 1

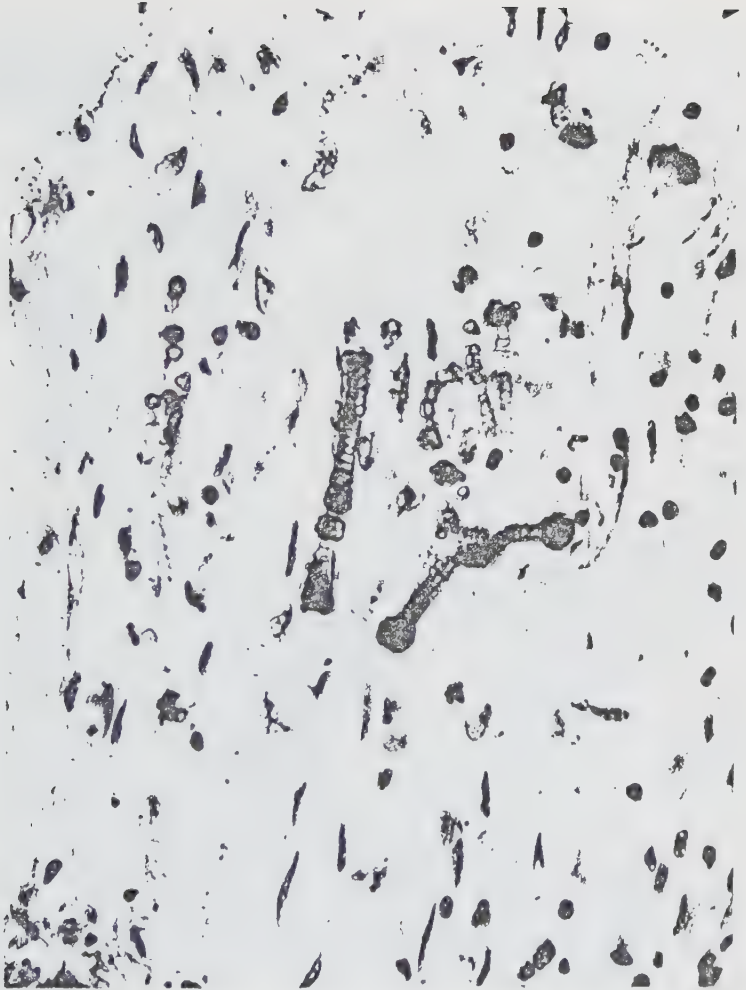


Abb. 21: Lichtmikroskopische Aufnahme einiger
interstitiell liegender Asbestosis-
körperchen.
Fall Nr. 48
Vergr.: Ca. 80 : 1

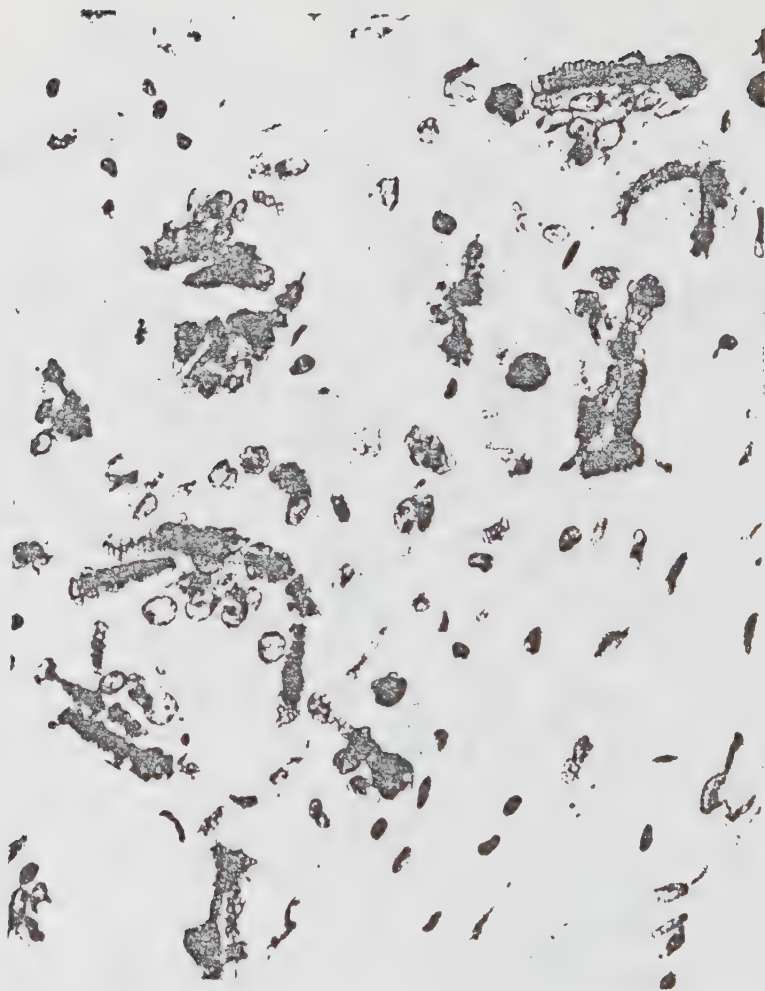


Abb. 22: Lichtmikroskopische Aufnahme einiger
Asbestosiskörperchen.
Fall Nr. 48
Vergr.: Ca. 80 : 1



Abb. 23: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme
einer Asbestnadel (Pfeil) in einem
Alveolarmakrophagen
Vergr.: Ca. 1.000 : 1



Abb. 24: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme.
Asbestnadel in einem Makrophagen
Fall Nr. 48
Vergr.: Ca. 2.000 : 1

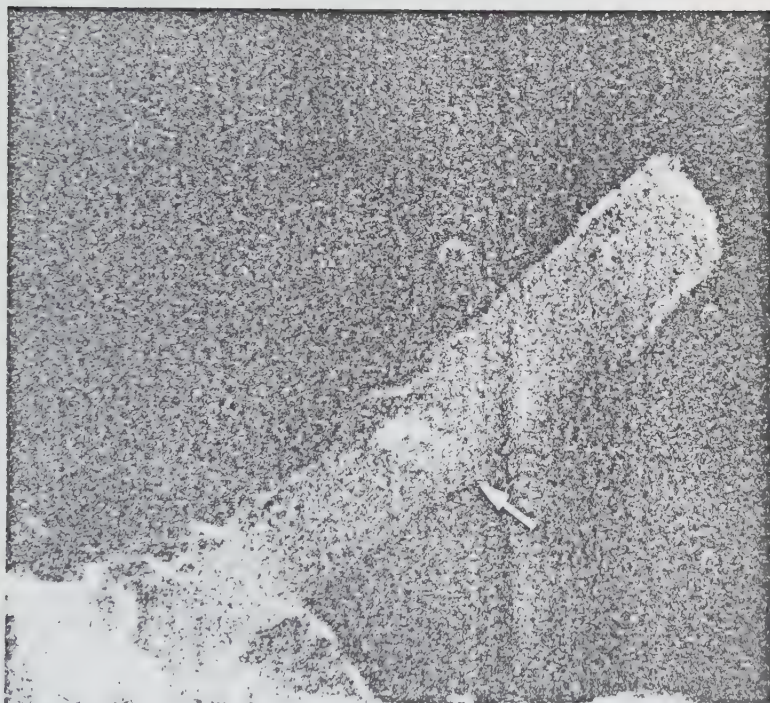


Abb. 25: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme.
Asbestnadel mit Resten der Eiweiß-Eisen-
Umhüllung.
Fall Nr. 48
Vergr.: Ca. 20.000 : 1



Abb. 26: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme.
Mehrere partiell von Makrophagen um-
gebene Asbestnadeln (Pfeile).
Vergr.: Ca. 2.000 : 1



Abb. 27! Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme.
Mehrere partiell von Makrophagen umgebene
Asbestnadeln.
Vergr.: 5.000 : 1

In der Lungenbiopsie eines 55-jährigen Betonarbeiters (Fall Nr. 59), bei dem klinisch der Verdacht auf eine Asbestose bestand, fand sich histologisch eine Asbestose mit subpleuraler und septaler Fibrosierung und typischen Asbestosiskörperchen (Abb. 28). Außerdem bestand eine peribroncho-vasale Fibrosierung mit reichlich Staubmakrophagen in schlecht ventilierten fibrosenahen Lungenabschnitten. Die peribroncho-vasalen Staubfibrosen ließen an die Möglichkeit einer zellig-bindegewebigen Reaktion auf Quarz denken (Abb. 29).

Mit der rasterelektronenmikroskopischen energiedispersen Röntgenmikroanalyse wurden 1. peribroncho-vasale Fibrosen und 2. Fibrosebezirke mit reichlich typischen Asbestkörperchen untersucht. In den peribroncho-vasalen Fibrosen ließen sich reichlich Makrophagen (Abb. 30), aber auch feinere, interstitiell freiliegende Fremdmaterialablagerungen nachweisen.

Die Analyse ergab hohe, teilweise sehr hohe Anteile an Silizium mit wechselnden, meist hohen

Anteilen an Eisen und stellenweise geringen Aluminiumanteilen. Magnesium fand sich nicht.

In den anderen Fibrosebezirken sah man neben zahlreichen Makrophagen auch stäbchenförmige Gebilde. Letztere lagen teils frei, teils auch partiell von Makrophagen umgeben in den Alveolen und in der Fibrose. Vereinzelt ließen sich Reste einer stark eisenhaltigen Umhüllung nachweisen.

Die Elementanalyse sowohl der Makrophagen als auch der Nadeln ergab hohe Siliziumanteile mit wechselnden, oft hohen Eisenimpulsen. Aluminium, Schwefel, Kalium und Kalzium ließen sich nur vereinzelt und in geringen Konzentrationen nachweisen (Abb. 31, 32).

Die Elementanalyse sowohl der peribroncho-vasalen Staubfibrosen als auch der "Asbestfibrose" ergab somit im wesentlichen gleiche Ergebnisse. Auch das Fehlen von Asbestnadeln in den ersteren läßt nicht mit Sicherheit auf eine unterschiedliche Ätiologie schließen.

Als Asbest bezeichnet man verschiedene faserige, im allgemeinen magnesiumhaltige Silikate. Im vorliegenden Fall ließ sich Magnesium nicht nachweisen. Möglicherweise handelt es sich bei den Ablagerungen um eine stark eisenhaltige, magnesiumarme Asbestart. Es ist aufgrund der vorliegenden Untersuchungen jedoch auch nicht auszuschließen, daß die nadelförmigen Gebilde keine Asbestnadeln waren. Auch Glasfasern zum Beispiel haben eine faserige Struktur, sind im wesentlichen reine Siliziumverbindungen, können in der Lunge von einem Eiweiß-Eisenmantel umgeben werden und können fibrogen wirken. Als Nebebefund ließen sich in den Alveolen vereinzelt säulenartige Gebilde nachweisen, die aus Schwefel und Kalzium bestanden. Möglicherweise handelte es sich dabei um Gips ($\text{CaSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$).

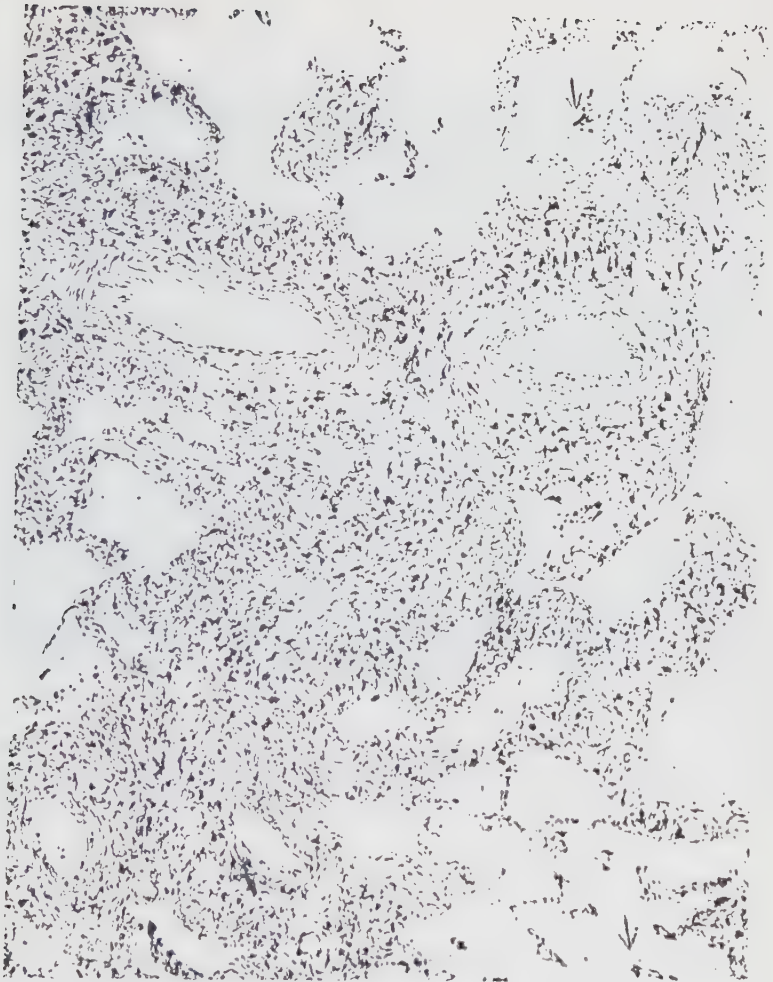


Abb. 28: Lichtmikroskopische Aufnahme.
Peribronchovasale Staubfibrose, in den
Alveolen und Septen Asbestnadeln (Pfeile).
Fall Nr. 59
Vergr.: Ca. 50 : 1

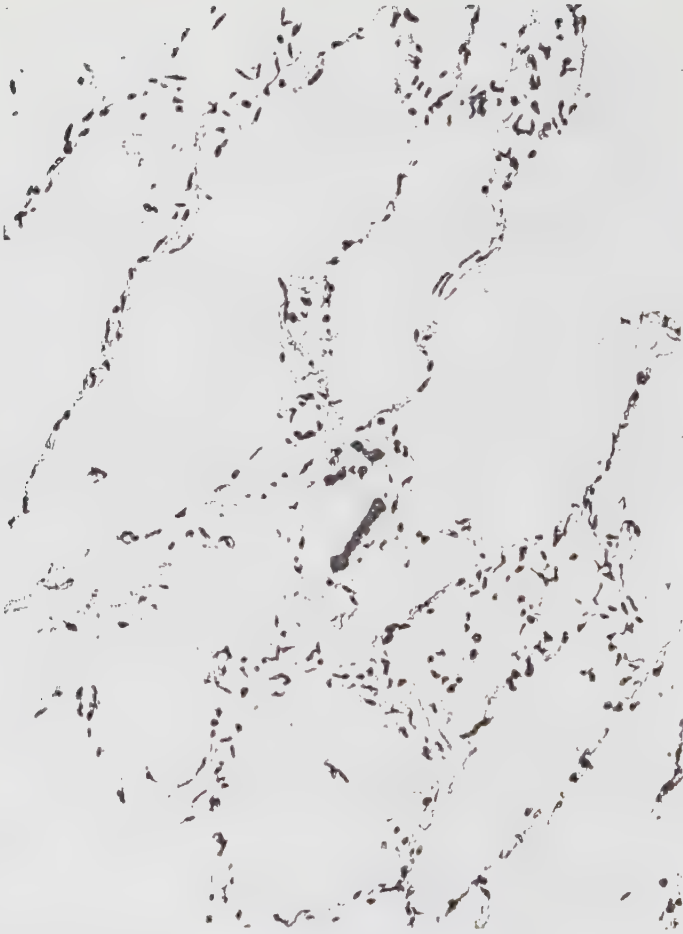


Abb. 29: Lichtmikroskopische Aufnahme.
Frei in der Alveole liegendes Asbestosis-
körperchen.
Fall Nr. 59
Vergr.: Ca. 80 : 1

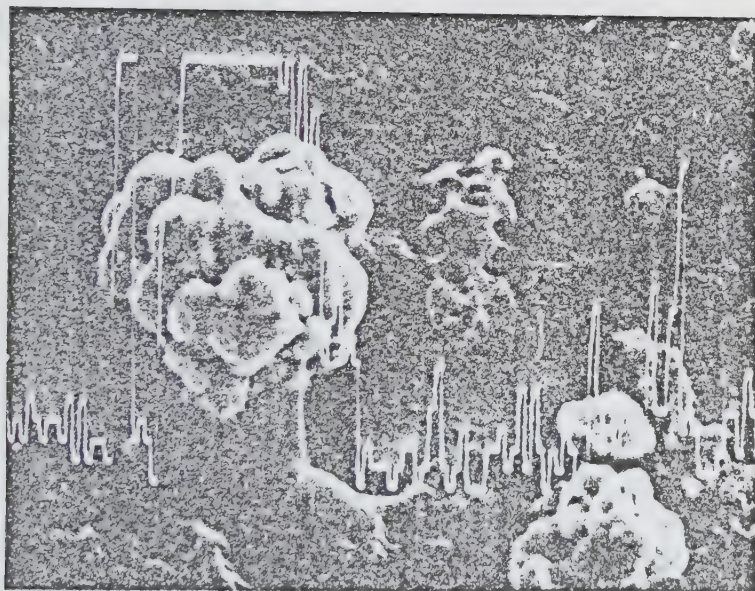


Abb. 30: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme.
Makrophage mit Siliziumverteilungsprofil.
Fall Nr. 58
Vergr.: Ca. 5.000 : 1

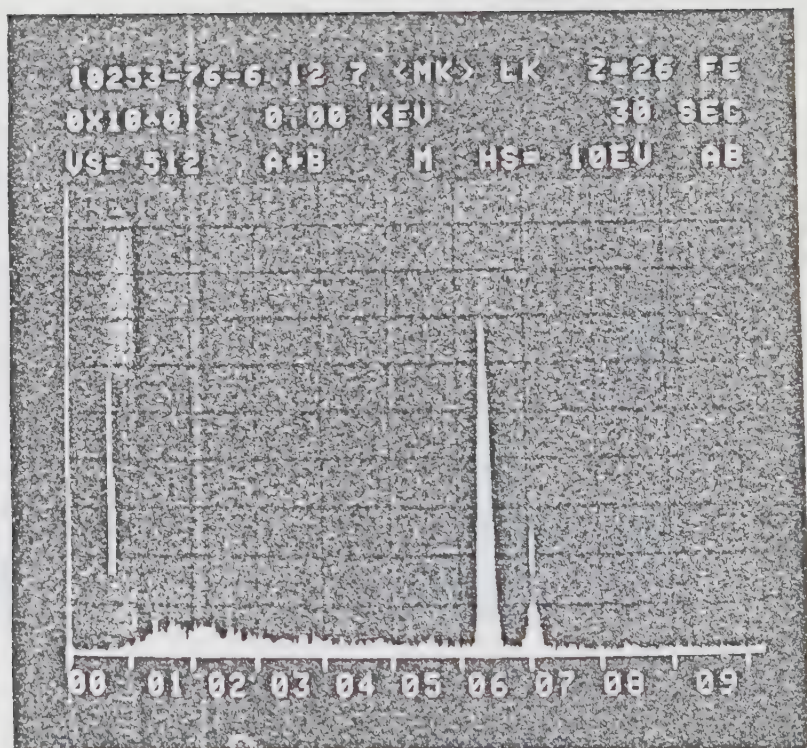


Abb. 31: Typisches energiedisperses Röntgenspektrum der Reste der eisenhaltigen Umhüllung der stäbchenartigen Gebilde.
Fall Nr. 59

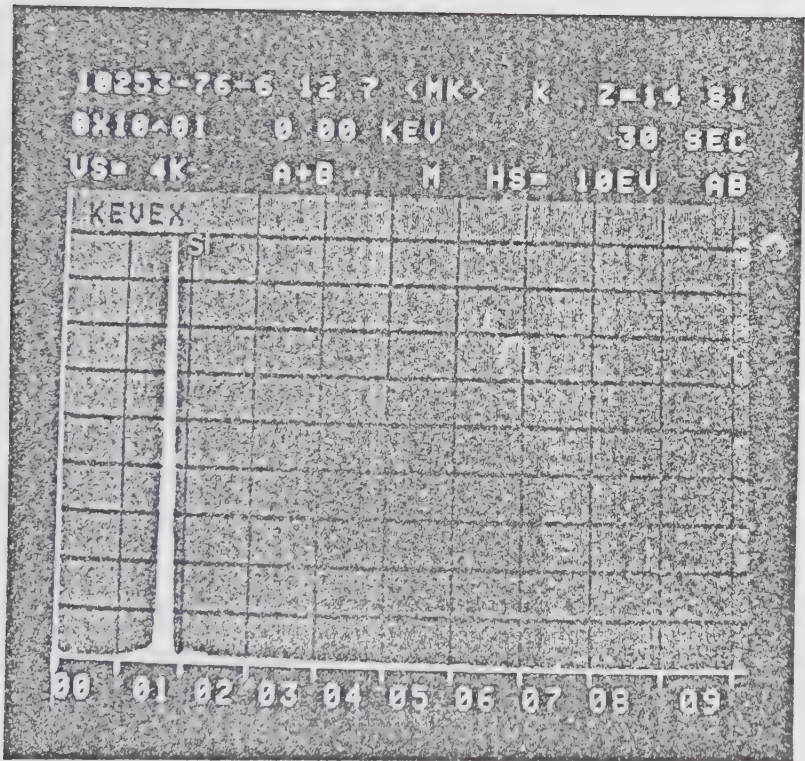


Abb. 32: Typisches energiedisperses Röntgenspektrum einer Nadel.
Fall Nr. 59
Sehr hoher Siliziumpeake (Si).

Ende 1976 wurden uns Lungen zur Zusatzbegutachtung zugeschiedt, in denen sich makroskopisch und mikroskopisch eine ausgedehnte interstitielle Fibrose mit wabigem Umbau des Lungengewebes fand. Interstitiell in der Fibrose und intraalveolär in den Makrophagen lag reichlich Fremdmaterial, das in der Berliner-Blaufärbung eine gering eisenpositive Reaktion ergab. Eine weitere Differenzierung war im histologischen Schnitt nicht möglich (Fall Nr. 60).

Im Rasterelektronenmikroskop konnten reichlich Makrophagen sowie amorph erscheinende interstitielle Ablagerungen nachgewiesen werden.

Die Röntgenmikroanalyse ergab sehr hohe Anteile an Silizium und Aluminium, stellenweise geringe Anteile an Magnesium, Titan, Schwefel und Eisen. Asbestkörperchen wurden nicht gefunden. Es handelte sich bei den Ablagerungen um Silikate mit hohem Aluminiumanteil und geringen Anteilen an Magnesium und Eisen. Die Analyseergebnisse glichen denen im Fall der Asbestose (Fall Nr. 48), jedoch gab es weder licht- noch elektronenmikroskopisch weitere Hinweise auf das Vorliegen einer Asbestose.

IV. Diskussion

Die Kombination von Rasterelektronenmikroskop und energiedisperser Röntgenmikroanalyse ermöglicht die Identifikation von in der Lunge abgelagertem Fremdmaterial. Sie liefert nicht nur semiquantitative und genaue qualitative Analysenergebnisse, sondern ermöglicht auch gleichzeitig die Zuordnung zu bestimmten Gewebsveränderungen. Eine solche Zuordnung war bisher mit keiner anderen Analysenmethode möglich, sieht man von den Spezialfärbungen histologischer Schnitte ab, die keine genaueren qualitativen Aussagen ermöglichen. Wegen des geringen technischen Aufwandes ist ein routinemäßiger Einsatz möglich. Die Röntgenmikroanalyse ermöglicht neben einer Identifikation lichtmikroskopisch unklarer Pigmentablagerungen auch die Differenzierung lichtmikroskopisch ähnlichen Fremdmaterials, z.B. der "ferrugineous bodies", sowie die Unterscheidung von phagozytiertem, intrazellulärem und nicht phagozytiertem, frei im Gewebe liegendem Material.

Mit dem in der Röntgenmikroanalyse üblicherweise benutzten Silizium-Lithium-Detektor lassen sich erst Elemente ab einer Ordnungszahl

von 10 nachweisen. Organische Substanzen - Kohlenstoff hat die Ordnungszahl 6 - werden somit nicht erfaßt. Ebenso ist keine Aussage über chemische Verbindungen möglich. Bei Elementen, die in verschiedenen, sowohl pathogenen als auch apathogenen Verbindungen vorkommen, kann aber eben dieser Nachweis wichtig sein. Im Einzelfall kann mit einem Kristallspektrometer als Detektor auch die chemische Verbindung ermittelt werden. Da eine solche Untersuchung jedoch aufwendig ist, ist sie für die routinemäßige Anwendung nicht geeignet.

Bei lichtmikroskopisch nicht oder kaum sichtbaren Staubablagerungen ist eine Elementanalyse schwierig, da die lichtmikroskopische Vororientierung nicht möglich ist. In diesen Fällen ist auch bei bekannter Staubexposition nur in Ausnahmefällen eine solche Untersuchung indiziert.

Wie die vorliegende Untersuchung gezeigt hat, sind bei durch anorganische Stäube verursachten Lungenfibrosen auch entsprechend hohe Elementablagerungen nachweisbar. Umgekehrt finden sich trotz reichlicher Staubablagerungen nicht unbedingt entsprechende Lungenveränderungen. Eine Möglichkeit der Deutung dieser

Befunde ist, daß Frühstadien erfaßt wurden und die Stäube noch nicht zu fibrosierenden Gewebsreaktionen geführt haben. Wahrscheinlicher ist jedoch, daß die Elemente entweder in apathogenen Verbindungen vorliegen oder in kleinen, meist ungezielt entnommenen Biopsieproben Fibrosebezirke nicht getroffen wurden. Im Einzelfall kann eine eindeutige Entscheidung selbst unter Mitbewertung der röntgenologischen und klinischen Befunde schwierig sein.

Natürlich kann die Analyse auch bei ausgedehnteren Pneumokoniosen negative Ergebnisse liefern, wenn bei der Biopsie nur unverändertes Gewebe entnommen wurde.

Die Röntgenmikroanalyse gibt wie alle anderen Analysemethoden nur einen Status praesens wieder und liefert keine Aufschlüsse über den zeitlichen Ablauf. Trotz enger räumlicher Beziehung muß kein ätiologischer Zusammenhang zwischen den fibrosierenden Lungenprozessen und den Staubablagerungen bestehen. Soweit keine typischen Gewebsveränderungen vorliegen, läßt sich unter Umständen nicht entscheiden, ob die Gewebsveränderungen Folge des

inhalieren Staubes sind, umgekehrt die Staubablagerungen durch die Lungenfibrosen begünstigt wurden oder beide Veränderungen sich unabhängig voneinander entwickelt haben.

Zusammenfassung:

An durch Biopsien und Obduktionen gewonnenen Lungenpräparaten wurden zur Identifikation intrapulmonaler Staubablagerungen kombinierte licht- und rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen durchgeführt. An den dabei dargestellten Fremdsubstanzen erfolgte die energiedisperse Röntgenmikroanalyse.

In den vorliegenden Untersuchungen wurden in den Lungenproben folgende Elemente nachgewiesen: Silizium und Aluminium zum Teil in hoher, Schwefel, Titan und Magnesiumsilikate in geringeren Konzentrationen, sowie Spuren von Chrom, Zink, Kupfer, Nickel und Mangan.

Gleichzeitig fanden sich in vielen Fällen im Bereich der nachgewiesenen Elementablagerungen fibrosierende Gewebsreaktionen, so daß ein ätiologischer Zusammenhang wahrscheinlich war.

Im Unterschied zu den sonst üblichen Analysemethoden ermöglicht die Kombination der licht- und rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen mit der energiedispersen Röntgenmikroanalyse neben der Aussage über die chemische Zusammensetzung der abgelagerten anorganischen Stäuben eine exakte morphologische Lokalisation.

Bei insbesondere beruflich bedingten Staubexpositionen können fibrosierende Lungenerkrankungen entstehen, die unter Umständen zu einer ausgeprägten Einschränkung der Lungenfunktion führen. Durch die Analyse der in der Lunge abgelagerten Substanzen und durch deren räumliche Zuordnung zu den Gewebsreaktionen können für die gutachterliche Beurteilung solcher Lungenprozesse exakte Daten für die differentialdiagnostische Einordnung gewonnen werden.

Literatur

- Baader, E.W. Handbuch der gesamten Arbeits-
medizin, Arbeitspathologie, Bd. 2,
Urban & Schwarzenberg (1961)
- Beck, E.G.
Robach, K. Untersuchungen über die Zytotoxi-
dität und die physikalischen Halb-
leitereigenschaften von zwei Quarzen
aus dem Gebirge Jeseniky (CSSR).
Jahresbericht 1970, Medizinisches
Institut für Lufthygiene und Sili-
koseforschung, Michael Triltsch
Verlag, Düsseldorf
- Bils, R.F. Effects of nitrogen dioxide and
ozone on monkey lung ultrastructure.
Pneumologie 150, 99 - 111, 1974,
Springer Verlag
- Bowden, D.H.: The alveolar macrophage, Current
Topics in Pathologie, Vol. 55,
1 - 31, 1971, Springer Verlag
- Bowden, D.H.
Adamson, J.Y.R.
Grantham, W.G.
Wyatt, J.P. Origin of the lung macrophage:
Evidence derived from radiation
injury. Arch. Path. 88, 540 - 546,
1969
- Bowden, D.H.
Adamson, J.Y.R. The pulmonary interstitial cell as
immediate precursors of the alveolar
macrophage. Am. J. Path. 68,
521 - 528, 1972
- Brude, J. Quarz, Jahresbericht 1970, Medi-
zinisches Institut für Lufthygiene
und Silikoseforschung, Michael
Triltsch Verlag, Düsseldorf

- Bühlmann, A. Inhalation von Nitrosegasen. Langzeitbeobachtungen nach akuten Vergiftungen. Pneumonologie 150, 131 - 132, 1974, Springer Verlag
- Brunstetter, M.A. The origin of pulmonary alveolar
Hardie, J.A. macrophage. Arch. Intern. Med. 127,
Schiff, R. 1064 - 1068, 1971
Lewis, J.P.
Cross, C.E.
- Carr, J. The Macrophage, 1973, Academic
Press London/New York
- Coffin, P.L. Influence of ozone on pulmonary
et. al. cells. Arch. environm. Hlth. 16,
633 - 636, 1968
- Cohen, A.B. The human alveolar macrophage:
Cline, H.J. Isolation, cultivation in vitro
and studies of morphologic and
functional characteristics.
J. Clin. Invest. 50, 1390 - 1398,
1971
- Dannenberg, A.M. Radiation, infection and macrophage
Roessler, W.C. function III, RES 7, 91 - 108, 1970
Meyers, O.T.
Chandrasekhar, S.
Kambara, T.
- Dannenberg, A.M. A histochemical study of phagocytic
Burstone, M.S. and enzymatic function of rabbit
Walter, P.C. mononuclear and polymorphonuclear
Kinsley, J.W. exsudate cells and alveolar macro-
 phage. J. Cell. Biol. 17, 465 - 486,
1963

- | | |
|--|---|
| <p>Evans, M.J.
Cabral, J.
Stephens, R.J.
Freeman, S.</p> | <p>Cell division of A.M. in rat lung following exposure to NO₂. Am. J. Path., Vol. 70, Nr. 2, 199 - 205, 1973</p> |
| <p>Fiedler, H.J.
Everts, H.</p> | <p>Energiedispersive Röntgen-Mikro-analyse, Grundlagen und Instrumente, Getac Instrumentebau GmbH, 1975</p> |
| <p>Furth, van, R.
Cohn, Z.A.</p> | <p>The Origin and kinetics of mono-nuclear phagocytes. J. exp. Med. 415 - 432, 1968</p> |
| <p>Furth, van, R.
Hirsch, J.G.
Fedorko, M.E.</p> | <p>Morphology and peroxidase cyto-chemistry of mouse promonocytes, monocytes and macrophages. J. Exp. Med. 794 - 805, 1970</p> |
| <p>Gedik, P.
Totovic, V.</p> | <p>Lysosomen und Pigmente. Referat, 60. Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für Pathologie, 1976</p> |
| <p>Green, G.M.
Kass, E.H.</p> | <p>Factors influencing the clearance of bacteria by the lung. J. Clin. Invest. <u>43</u>, 769 - 776, 1964 a</p> |
| <p>Green, G.M.
Kass, E.H.</p> | <p>The influence of bacterial species on pulmonary resistance to infection in mice subjected to hypoxia, cold stress and ethanolic intoxication. Brit. J. exp. Pathol. <u>46</u>, 360 - 366, 1965</p> |
| <p>Gotz, J.</p> | <p>Bedeutung der Immunologie im Bereich der Atemwege. Atemwegs- und Lungen-erkrankungen Nr. <u>2</u>, 69 - 80, 1975</p> |
| <p>Gonsior, E.
Meier-Sydow, J.</p> | <p>Immunologische Reaktionen bei Lungen-krankheiten. Atemwegs- und Lungen-erkrankungen Nr. <u>2</u>, 63 - 68, 1975</p> |

- Hahn, H. Lysosomen und Infektabwehr,
Referat, 60. Verhandlungen der
Deutschen Gesellschaft für
Pathologie, 1976
- Hatch, T.F.
Gross, P. Pulmonary deposition and retention
of inhaled aerosols: 1964, Academic
Press
- Langer, K.H. Lysosomen und Heterophagie. 60. Ver-
handlungen der Deutschen Gesellschaft
für Pathologie, Freiburg 1976
- Leake, E.S.
Evans, D.G.
Myrvik, Q.N. Ultrastructural patterns of bacterial
breakdown in normal and granulomatous
rabbit alveolar macrophages, RES 2,
174 - 199, 1971
- Leake, E.S.
et. al. Surface morphology of alveolar
macrophage, RES, Vol. 17, NO 6,
370 - 379, 1975
- Meyer, O.T.
Dannenberg jr, A.M. Radiation, infection and macrophagen
function II. RES, 7, 79 - 90, 1970
- Morgenroth, K. Cellular reaction in the human lung
caused by inhalation of asbestos
dust over long periods. Beitr.
Path., Bd. 148, 199 - 211, 1973
- Morgenroth, K.
Blasche, R.
Schlahe, W. Energie dispersive X-ray analysis
of semi-thin section in the scanning
transmission. Beitr. Path., Bd. 150,
406 - 411, 1973
- Naeve, R.L. The anthracotic pneumoconiosis.
Current Topic in Pathologie, Vol. 55,
37 - 63, 1971, Springer Verlag

- Nichols, B.A.
Bainton, D.F.
Farguhar, M.G.
- Differentiation of monocytes.
J. Cell. Biol. 50, 498 - 514,
1971
- Osen, R.
Farnham, A.E.
Saito, K.
Milofosky, E.
Karnowsky, M.L.
- Metabolic patterns in three types
of phagocytizing cells. J. Cell.
Biol. 17, 487 - 501, 1963
- Persigehl, M.
Kasperek, K.
Klein, H.J.
Feinendegen, L.E.
- Einfluß der Industrialisierung
auf den Spurenelementgehalt in
menschlichen Lungen. Beitr. Path.,
Bd. 157, 260 - 268, 1976
- Petzow, G.
- Quantitative Analyse von Gefügen
in Medizin, Biologie und Material-
entwicklung, 1975, Riederer Verlag
- Pinkett, M.O.
Cowdrey, C.R.
Nowell, P.C.
- Mixed hematopoietic and pulmonary
origin of alveolar macrophages' as
demonstrated by chromosomal markers.
Am. J. Path. 48, 1966
- Purvis, M.R.
Miller, S.
Ehrlich, R.
- Effect of atmospheric pollutants on
susceptibility to respiratory in-
fections. I. Effect of ozone. J.
infect. Dis. 190, 238 - 242, 1961
- Rehme, H.
Wolfgang, E.
- Spektroskopische Methoden zur Mikro-
analyse im Rasterelektronenmikroskop.
Analysetechnische Mitteilung Nr. 153
Sonderdruck Siemens-Zeitschrift,
Heft 11, 1975
- Sawicki, E.
- Air-borne carcinogens and allied
compounds. Arch. Environm. Hlth. 14,
46 - 53, 1967

- Schmährl, D. Entstehung, Wachstum und Chemotherapie maligner Tumoren. Arzneimittel-Forschung, 21. Beiheft, 1970, Editor Cantor KG
- Spritzer, A.A.
Watson, J.A.
Auld, J.A.
Guethhoff, M.A. Pulmonary macrophage clearance - the hourly rates of transfer of pulmonary macrophages to the oropharynx of the rat. Arch. environm. Hlth. 17, 726 - 730, 1968
- Sutton, J.S.
Weiss, L. Transformation of monocytes in tissue culture into macrophages, epitheloid cells and multinucleated giant cells. J. Cell. Biol. 28, 303 - 330, 1966
- Ulmer, W.T. Inhalative Noxen: Schwefeldioxyd. Pneumonologie 150, 83 - 96, 1974
- Virolainen, M. Hematopoietic origin of macrophages as studied by chromosome markers in mice. J. exp. Med. 127, 943 - 953, 1968
- Weissbecker, L. In vitro alveolar macrophages viability - effect of gases. Arch. environm. Hlth, 18, 756 - 759, 1969
- Williams, R.D.
Acton, J.D.
Myrvik, Q.N. Influence of nitrogen dioxide on the uptake of parainfluenza-3-virus by alveolar macrophage. RES. 11, 627 - 636, 1972
- Woldseth, R. X-ray-energy spectrometry, 1973, Kevex corporation

Herrn Prof. Dr. med. K. Morgenroth gilt mein besonderer Dank für die Überlassung des Themas, die Anleitung und großzügige Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit.

Lebenslauf

Am 2. 2. 1947 wurde ich in Bochum geboren.
Von 1953 bis 1956 war ich Schülerin der katholischen Volksschule in Bochum-Altenbochum, anschließend besuchte ich 9 Jahre lang die damals staatliche Hildegardisschule, ein neusprachliches Mädchengymnasium.

Nach dem Abitur im Februar 1966 studierte ich Medizin an den Universitäten Bonn und Würzburg.
Im August 1972 bestand ich das Medizinische Staatsexamen in Bonn.

Nach meiner Medizinalassistentenzeit war ich 2 Jahre lang als Assistenzärztin an einer geburtshilflich-gynäkologischen Abteilung beschäftigt. Seit Januar 1976 arbeite ich am Pathologischen Institut der Ruhr-Universität Bochum.

